



**SKRINING FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI
EKSTRAK ETANOL DAUN BAWANG DAYAK (*Eleutherine americana*
(Aubl.) Merr.) ASAL KABUPATEN PROBOLINGGO PROVINSI JAWA
TIMUR TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia
coli***

SKRIPSI

Oleh:

Alwi Robiyanto

NIM 152210101022

**BAGIAN BIOLOGI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2020**



**SKRINING FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI
EKSTRAK ETANOL DAUN BAWANG DAYAK (*Eleutherine americana*
(Aubl.) Merr.) ASAL KABUPATEN PROBOLINGGO PROVINSI JAWA
TIMUR TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia
coli***

SKRIPSI

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk
menyelesaikan pendidikan di Fakultas Farmasi dan mencapai gelar Sarjana
Farmasi

Oleh :

**Alwi Robiyanto
NIM 152210101022**

**BAGIAN BIOLOGI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2020**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini penulis persembahkan untuk:

1. Allah SWT. yang telah memberi saya kesempatan, petunjuk, nikmat, serta rahmat sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini;
2. Nabi Muhammad SAW. sebagai panutan terbesar dalam hidup saya;
3. Bapak Gatot Djuwadi, Ibu Sunarti, Kakak Handan Renato, Kakak Nanis Setyorini, dan anggota keluarga besar serta yang telah memberi saya doa dan dukungan ;
4. Seluruh Bapak dan Ibu dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberikan ilmu dan membimbing saya selama ini;
5. Bapak dan Ibu Guru sejak Taman Kanak-kanak (TK) hingga Sekolah Menengah Atas (SMA), yang telah memberikan ilmu dan mendidik saya dengan penuh kesabaran;
6. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.

MOTTO

“Hidup adalah perjuangan”

“Gagal 100x itu biasa namun putus asa 1x itu baru masalah”

“Jika hidup dengan suatu tujuan yang kuat, maka kerja keras bukanlah sebuah pilihan tetapi sebuah keharusan”

“Karena sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan. Sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan. Maka apabila engkau telah selesai (dari sesuatu urusan), tetaplah bekerja keras (untuk urusan lain). Dan hanya kepada Tuhanmulah engkau berharap.”

(QS. Al-Insyirah ayat 5-8)

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Alwi Robiyanto

NIM : 152210101022

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Bawang Dayak (*Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. Asal Kabupaten Probolinggo Provinsi Jawa Timur terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 21 Januari 2020

Yang menyatakan,

Alwi Robiyanto

NIM 152210101022

SKRIPSI

**SKRINING FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI
EKSTRAK ETANOL DAUN BAWANG DAYAK (*Eleutherine americana*
(Aubl.) Merr.) ASAL KABUPATEN PROBOLINGGO PROVINSI JAWA
TIMUR TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia
coli***

Oleh:

Alwi Robiyanto

NIM 152210101022

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Indah Yulia Ningsih, S.Farm.,M.Farm.,Apt.

Dosen Pembimbing Anggota : Dewi Dianasari, S.Farm.,M.Farm.,Apt.

Digital Repository Universitas Jember

PENGESAHAN

Skripsi berjudul "Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Bawang Dayak (*Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. Asal Kabupaten Probolinggo Provinsi Jawa Timur terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*" karya Alwi Robiyanto telah diuji dan disahkan pada :
hari, tanggal : Selasa, 21 Januari 2020
tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Pembimbing

Dosen pembimbing Utama,

Indah Yulia N, S.Farm.,M.Farm.,Apt

NIP. 198407122008122002

Dosen Pembimbing Anggota,

Dewi Dianasari, S.Farm., M.Farm.,Apt.

NIP. 198712082014042002

Tim Penguji

Dosen Penguji I

Nuri, S.Si.,Apt.,M.Si.

NIP. 196904122001121007

Dosen Penguji II

Bawon Triatmoko, S.Farm., M.Sc.,Apt.

NIP. 198201292009121003

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember



Lestyo Wulandari, S.Si.,Apt.,M.Farm

NIP. 197604142002122001

RINGKASAN

Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Bawang Dayak (*Eleutherine americana* (Aubl.) Merr.) Asal Kabupaten Probolinggo Provinsi Jawa Timur Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*; Alwi Robiyanto, 152210101022; 2020; 75 Halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyakit infeksi merupakan salah satu faktor utama meningkatnya angka kematian dan kesakitan pada manusia. Faktor yang menyebabkan terjadinya penyakit infeksi adalah mikroorganisme patogen seperti bakteri, fungi, virus atau parasit. Salah satu penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri yaitu infeksi saluran kemih (ISK). Infeksi saluran kemih (ISK) disebabkan oleh mikroorganisme diantaranya adalah bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Penyakit infeksi yang disebabkan adanya mikroorganisme bakteri dapat diterapi menggunakan antibiotik. Penggunaan antibiotik yang tidak tepat dapat menyebabkan terjadinya peningkatan resistensi bakteri. Pencarian atau penelusuran agen antibakteri dilakukan untuk mendapatkan alternatif antibiotik lain yang memiliki aktivitas terhadap mikroorganisme patogen, salah satunya bersumber dari bahan alam yaitu *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. yang dikenal dengan bawang dayak.

Berdasarkan uraian di atas, perlu dilakukan penelitian terkait potensi aktivitas antibakteri ekstrak daun *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Metode ekstraksi dilakukan dengan maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui golongan metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol daun *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. kemudian dilakukan uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. menggunakan metode difusi cakram .

Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa golongan senyawa aktif yang terkandung pada daun *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. adalah golongan senyawa alkaloid, terpenoid, steroid, flavonoid, polifenol, dan tanin. Pada uji aktivitas antibakteri menggunakan kontrol positif gentamisin dan kontrol negatif

DMSO 10%. Hasil uji aktivitas antibakteri menghasilkan diameter zona hambat dari beberapa konsentrasi uji. Semakin besar konsentrasi yang digunakan, semakin besar pula diameter zona hambat yang dihasilkan. Hasil uji aktivitas antibakteri dengan konsentrasi 1%, 5%, 10%, 20%, dan 40% menghasilkan diameter zona hambat pada *Staphylococcus aureus* berturut-turut sebesar $0,00 \pm 0,00$ mm; $8,31 \pm 0,42$ mm; $9,42 \pm 0,23$ mm; $11,25 \pm 0,18$ mm; dan $12,25 \pm 0,17$ mm. Sedangkan, pada *Escherichia coli* menunjukkan adanya zona hambat berturut-turut sebesar sebesar $0,00 \pm 0,00$ mm; $6,77 \pm 0,09$ mm; $7,91 \pm 0,22$ mm; $8,49 \pm 0,15$ mm; dan $9,57 \pm 0,37$ mm.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah Subhanallahu Wa Ta'ala atas segala rahmat dan ridho-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul "Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Bawang Dayak (*Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*". Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan Pendidikan Strata Satu (S1) Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tentunya tidak lepas dari bantuan berbagai pihak dan pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Allah SWT, yang telah memberikan nikmat dan kesempatan luar biasa kepada penulis sehingga skripsi ini selesai;
2. Ibu Lestyo Wulandari, S.Si.,M.Farm.,Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
3. Ibu Indah Purnama Sary, S.Si.,M.Farm.,Apt. dan Ibu Yuni Retnaningtyas, S.Si.,Apt.,M.Si. selaku dosen pembimbing akademik yang telah membimbing dan memberikan arahan selama penulis menjadi mahasiswa;
4. Ibu Indah Yulia Ningsih, S.Farm.,M.Farm.,Apt. selaku dosen pembimbing utama dan Ibu Dewi Dianasari, S.Farm.,M.Farm.,Apt. selaku dosen pembimbing anggota yang penuh kesabaran membimbing dalam menyelesaikan skripsi ini;
5. Bapak Nuri, S.Si.,Apt.,M.Si. selaku dosen pengaji I dan Bapak Bawon Triatmoko, S.Farm.,M.Sc.,Apt. selaku dosen pengaji II, terima kasih atas saran dan kritik yang telah diberikan demi kesempurnaan skripsi ini;
6. Segenap dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberikan ilmunya selama penulis menempuh pendidikan di Fakultas Farmasi Universitas Jember;
7. Pada teknisi laboratorium, Bu Widi dan Mbak Parka yang telah banyak membantu selama proses penelitian;
8. Bapak Gatot Djuwadi, Ibu Sunarti, Kakak Handan Renato, Kakak Ida Fitriana, Kakak Doni Agung Wicaksono, Kakak Nanis Setyorini dan anggota keluarga besar serta yang telah memberi saya doa dan dukungan tiada henti;

9. Teman-teman seperjuangan “Libitum” angkatan 2015, terimakasih atas semangat, kebersamaan, serta kenangan yang tak terlupakan;
10. Teman-teman seperjuangan skripsi Bawang Dayak (Ilham Robbynoor Sulistyono dan Zidni Hafizha) atas kerja sama dan bantuannya hingga skripsi ini dapat terselesaikan;
11. Teman-teman SMA dan Kuliah (Dida Arga, Rhisma, Raka, Septiyan, Winantea, Youga, Himawan, Obby, Wayan, dan Beryl) yang selalu memberikan motivasi dan semangat;
12. Teman-teman Kontrakon S11 dan Kos Riau 23 (Ali, Denis, Ojix, Anggit, Bryan, Akbar, Anam, Kresna, dan Mahe) terimakasih atas bantuan, dukungan yang diberikan, dan saling berbagi canda tawa;
13. Teman-teman LINGKAR yang telah memberikan pengalaman, pembelajaran, kerjasama serta berbagi keceriaan bersama penulis;
14. Seluruh civitas akademik dan semua pihak yang terlibat dalam penulisan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Hanya ucapan terima kasih dan doa yang dapat penulis sampaikan atas semua kebaikan dan dukungan yang telah diberikan. Penulis menyadari masih terdapat kekurangan, sehingga diperlukan kritik serta saran guna kesempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembaca dan pengembangan ilmu pengetahuan dan teknologi farmasi.

Jember, 21 Januari 2020

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN.....	vi
HALAMAN PENGESAHAN.....	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Tinjauan Infeksi	5
2.1.1 Infeksi Bakteri.....	5
2.2 Tinjauan <i>Eleutherine americana</i> (Aubl.) Merr.....	8
2.2.1 Klasifikasi Tanaman <i>Eleutherine americana</i> (Aubl.) Merr.....	8
2.2.2 Morfologi dan Deskripsi Tanaman <i>Eleutherine americana</i> (Aubl.) Merr.	9
2.2.3 Nama Daerah Tanaman <i>Eleutherine americana</i> (Aubl.) Merr.10	
2.2.4 Kandungan Kimia Tanaman <i>Eleutherine americana</i> (Aubl.) Merr.	10
2.2.5 Manfaat Tanaman <i>Eleutherine americana</i> (Aubl.) Merr.	10
2.3 Tinjauan Ekstraksi	11
2.4 Tinjauan Skrining Fitokimia	12
2.5 Tinjauan Uji Antibakteri.....	12

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	14
3.1 Jenis Penelitian	14
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	14
3.3 Alat dan Bahan Penelitian.....	14
3.3.1 Alat.....	14
3.3.2 Bahan	14
3.4 Rancangan Penelitian	15
3.5 Variabel Penelitian.....	16
3.5.1 Variabel Bebas	16
3.5.2 Variabel Terikat	16
3.5.3 Variabel Terkendali	16
3.6 Definisi Operasional.....	16
3.7 Prosedur Kerja	17
3.7.1 Determinasi Tanaman <i>Eleutherine americana</i> (Aubl.) Merr.....	17
3.7.2 Pembuatan Simplisia.....	17
3.7.3 Pembuatan Ekstrak Daun <i>Eleutherine americana</i> (Aubl.) Merr.....	17
3.7.4 Skrining Fitokimia	18
3.8 Uji Aktivitas Antibakteri.....	21
3.8.1 Sterilisasi Alat dan Bahan	21
3.8.2 Pembuatan Media	21
3.8.3 Peremajaan Biakan Murni	22
3.8.4 Peremajaan Biakan Bakteri.....	22
3.8.5 Pembuatan Biakan Aktif	22
3.8.6 Pembuatan Suspensi Mc Farland 0,5	22
3.8.7 Pembuatan Kontrol Negatif	23
3.8.8 Penyiapan Kontrol Positif.....	23
3.8.9 Pembuatan Larutan Uji	23
3.8.10 Uji Aktivitas Antibakteri.....	23
3.9 Analisis Data.....	24
3.10 Skema Penelitian	25
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	26

4.1 Determinasi Tanaman <i>Eleutherine americana</i> (Aubl.) Merr....	26
4.2 Ekstraksi Daun <i>Eleutherine americana</i> (Aubl.) Merr.....	26
4.3 Skrining Fitokimia Ekstrak Daun <i>Eleutherine americana</i> (Aubl.) Merr.	26
4.4 Pengujian Aktivitas Ekstrak Etanol Daun <i>Eleutherine americana</i> (Aubl.) Merr. terhadap <i>S.aureus</i> dan <i>E. coli</i>	28
BAB 5. PENUTUP.....	33
5.1 Kesimpulan.....	33
5.2 Saran	33
DAFTAR PUSTAKA	34
LAMPIRAN	38

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Morfologi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	6
Gambar 2.2	Morfologi bakteri <i>Escherichia coli</i>	7
Gambar 2.3	Morfologi tanaman <i>Eleutherine americana</i> (Aubl.) Merr.....	9
Gambar 3.1	Skema rancangan penelitian uji	15
Gambar 3.2	Skema Kerja Penelitian.....	25
Gambar 4.1	Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun <i>Eleutherine americana</i> (Aubl.) Merr. terhadap <i>S. aureus</i>	28
Gambar 4.2	Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun <i>Eleutherine americana</i> (Aubl.) Merr. terhadap <i>E. coli</i>	28

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1	Hasil randemen ekstraksi daun <i>Eleutherine americana</i> (Aubl.) Merr.	26
Tabel 4.2	Hasil skrining fitokimia ekstrak daun <i>Eleutherine americana</i> (Aubl.) Merr.	27
Tabel 4.3	Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun <i>Eleutherine americana</i> (Aubl.) Merr. terhadap <i>S. aureus</i> dan <i>E. coli</i>	29

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran A. Hasil Determinasi Tanaman <i>Eleutherine americana</i> (Aubl.) Merr.	37
Lampiran B. Hasil Rendemen Ekstrak Etanol Daun <i>Eleutherine americana</i> (Aubl.) Merr.	38
Lampiran C. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun <i>Eleutherine americana</i> (Aubl.) Merr.....	39
Lampiran D. Hasil Perhitungan Larutan Uji	43
Lampiran E. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun <i>Eleutherine americana</i> (Aubl.) Merr. terhadap Bakteri <i>S. aureus</i>	44
Lampiran F. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun <i>Eleutherine americana</i> (Aubl.) Merr. terhadap Bakteri <i>E. coli</i>	45
Lampiran G. Hasil Uji Statistik Ekstrak Daun <i>Eleutherine americna</i> (Aubl.) Merr. terhadap <i>S. aureus</i>	46
Lampiran H. Hasil Uji Statistik Ekstrak Daun <i>Eleutherine americna</i> (Aubl.) Merr. terhadap <i>E. coli</i>	48
Lampiran I. Hasil Uji T Ekstrak Daun <i>Eleutherine americna</i> (Aubl.) Merr. terhadap <i>S. aureus</i> dan <i>E. coli</i>	50

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia adalah salah satu negara berkembang yang ada di wilayah Asia Tenggara. Salah satu yang menjadi perhatian khusus bagi negara ini adalah banyaknya masalah tentang penyakit, terutama penyakit infeksi. Penyakit infeksi merupakan salah satu faktor utama meningkatnya angka kesakitan dan angka kematian pada manusia (Irawan dan Hilman, 2018). Faktor yang menyebabkan terjadinya penyakit infeksi ini adalah mikroorganisme patogen seperti bakteri, fungi, virus atau parasit (Novard dkk., 2019). Mikroorganisme tersebut akan berkembang biak dan menyebar luas melalui jaringan dan peredaran darah sistemik (Novard dkk., 2019).

Infeksi yang disebabkan oleh bakteri salah satunya yaitu infeksi saluran kemih (ISK). Infeksi saluran kemih (ISK) merupakan jenis infeksi nosokomial yang mempunyai angka kejadian tertinggi di Indonesia yaitu sekitar 39-60% (Musdalipah, 2018). Menurut Rowe dan Juthani (2013), resiko terkena infeksi saluran kemih (ISK) yang paling sering terjadi yaitu pada wanita dibandingkan dengan pria. Prevalensi wanita muda terkena ISK sebesar 1-5% mengalami peningkatan saat usia > 65 tahun sebesar 6-16% dalam 12 tahun terakhir. Jumlah tersebut meningkat sampai 20% pada wanita usia > 80 tahun. Penyakit infeksi saluran kemih (ISK) termasuk infeksi lingkungan yang disebabkan oleh bakteri dan pemakaian alat atau bahan yang berada di lingkungan rumah sakit (Soedarto, 2016). Bakteri patogen penyebab infeksi saluran kemih (ISK) diantaranya adalah *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (Brooks dkk., 2004).

E. coli adalah bakteri gram negatif yang mudah ditemukan dan menjadi salah satu bakteri yang paling umum menyebabkan penyakit infeksi yaitu sekitar 84,7% patogen penyebab infeksi saluran kemih (ISK) (Brooks dkk., 2004). *E. coli* dapat menyebabkan penyakit infeksi saluran pencernaan, infeksi saluran urinarius (Novard dkk., 2019), dan diare (Purnamasari dkk., 2006). Sedangkan, *S. aureus* adalah bakteri gram positif yang bersifat patogen oportunistik, berkoloni di selaput

lendir, kulit, dan di mukosa saluran pencernaan manusia (Darmawati dkk., 2015). *S. aureus* dapat menimbulkan infeksi pada saluran kemih dengan menyebabkan bakterimia yang kemudian bermetastasis di ginjal manusia yang kemudian menyebar secara hematogen (Dipiro, 2008).

Penggunaan antibiotik menjadi solusi untuk menanggulangi penyakit infeksi akibat dari bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Antibiotik mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan dan menghancurkan mikroorganisme patogen, sehingga memiliki peranan penting dalam mengatasi bakteri di dalam tubuh manusia. Upaya penanggulangan penyakit menggunakan antibiotik yang tidak tepat dapat menimbulkan peningkatan resistensi bakteri (Endriani dkk., 2009). Salah satu cara mengeksplorasi adanya penemuan antibiotik baru dengan memanfaatkan antibakteri bersumber dari bahan alam. Menurut Puspadiwi dkk. (2013), senyawa metabolit sekunder yang berasal dari tanaman diketahui mempunyai aktivitas antibakteri.

Tanaman famili Liliaceae dari genus Eleutherine merupakan salah satu tanaman yang memiliki aktivitas biologis sebagai agen antibakteri. Salah satu tanaman dari genus Eleutherine adalah *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. yang dikenal dengan nama bawang dayak. Tanaman ini berasal dari daerah tropis Amerika, tetapi sekarang banyak dibudidayakan di Afrika Selatan, Cina, Thailand dan Indonesia (Insanu dkk., 2014). Secara empiris, umbi bawang dayak memiliki manfaat mengatasi bisul dan penyakit kulit (Puspadiwi dkk., 2013), antikanker, antiinflamasi, antimikroba, menyembuhkan hipertensi, dan diabetes melitus (Wijayanti dan Hasyati, 2018).

Pada penelitian Novaryatin dkk. (2019), ekstrak etanol umbi *Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb. menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dengan konsentrasi 10 mg/mL, 50 mg/mL, 100 mg/mL, dan 150 mg/mL masing-masing menghasilkan diameter zona hambat sebesar 14,3 mm; 16,6 mm; 16,2 mm; dan 18 mm menggunakan metode difusi cakram. Di sisi lain, pada penelitian Amanda (2014), ekstrak etanol umbi *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* dengan konsentrasi 10 mg/mL, 20mg/mL, dan 40 mg/mL dengan diameter zona hambat

sebesar 8 mm; 9 mm; dan 10 mm dengan menggunakan metode difusi cakram. Hingga saat ini, belum ada penelitian mengenai aktivitas antibakteri daun bawang dayak.

Berdasarkan uraian diatas, maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui aktivitas ekstrak dari daun *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Penelitian awal dilakukan dengan skrining fitokimia dan dilanjutkan dengan pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram. Skrining fitokimia yang dilakukan untuk mengetahui metabolit sekunder dalam ekstrak etanol daun *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. Sedangkan tujuan dari metode difusi cakram ini untuk mengetahui adanya aktivitas antibakteri pada ekstrak etanol *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas, dapat dirumuskan beberapa rumusan masalah sebagai berikut :

- a. Apa golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol daun *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. ?
- b. Bagaimana aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. terhadap *S. aureus* dan *E. coli* ?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan uraian rumusan masalah, adapun tujuan yang ingin dicapai dari penelitian ini adalah:

- a. Mengetahui kandungan senyawa alkaloid, saponin, flavonoid, polifenol, terpenoid, steroid, dan tanin di dalam ekstrak etanol daun *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr.
- b. Mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. terhadap *S. aureus* dan *E. coli* berdasarkan nilai diameter zona hambat pada setiap konsentrasi.

1.4 Manfaat Penelitian

Pada penelitian ini adapun manfaat yang ingin didapatkan antara lain:

- a. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat tentang potensi daun *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. sebagai agen antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli*.
- b. Penelitian ini diharapkan sebagai penelitian dasar yang dapat dilakukan lebih lanjut untuk penemuan dan pengembangan obat dari bahan tanaman sebagai agen antibakteri.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Infeksi

2.1.1 Infeksi Bakteri

Penyakit infeksi adalah salah satu faktor utama meningkatnya angka kesakitan dan angka kematian pada manusia di negara berkembang, khususnya Indonesia (Irawan dan Hilman, 2018). Faktor penyebab terjadinya penyakit infeksi adalah mikroorganisme patogen seperti bakteri, fungi, virus, atau parasit. Penularan penyakit infeksi dapat terjadi secara cepat, ketika adanya interaksi dengan mikroba yang menyebabkan kerusakan pada tubuh *host* dan kerusakan tersebut dapat menimbulkan berbagai gejala dan tanda klinis pada manusia (Novard dkk., 2019).

Beberapa faktor timbulnya penyakit infeksi, akibat adanya flora normal di dalam tubuh manusia yang bersifat tidak patogen, namun dapat bersifat patogen dan menimbulkan infeksi dalam keadaan dan waktu tertentu (Jawetz dkk., 2004). Patogenesis dari penyakit infeksi dapat terjadi melalui beberapa proses yaitu penempelan atau pelekatan bakteri pada sel *host* terutama pada sel epitel sehingga terbentuk tempat infeksi. Infeksi yang terjadi akan berkembang biak, kemudian dapat menyebar luas melalui jaringan dan peredaran darah sistemik (Novard dkk., 2019).

Bakteri patogen termasuk faktor penyebab dari penyakit infeksi yang terdiri dari bakteri gram positif dan bakteri gram negatif (Soedarto, 2016). Beberapa contoh bakteri gram positif yang menyebabkan infeksi antara lain *Enterococcus*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*. Sedangkan beberapa contoh bakteri negatif, antara lain *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, dan *Pseudomonas aeruginosa* (Soedarto, 2016). Bakteri gram positif merupakan mikroorganisme patogen penyebab infeksi kulit, jaringan lunak (Darmawati dkk. 2015), penyebab infeksi saluran kemih (ISK) (Soedarto, 2016), pneumonia, bakterimia, dan infeksi nosokomial (Rowe dkk., 2013). Penyebab lain yang dapat menimbulkan penyakit infeksi pada manusia adalah bakteri gram negatif. Bakteri gram negatif sering dikaitkan dengan penyebab penyakit infeksi saluran kemih

(ISK) yang ditandai gejala meliputi disuria, hematuria, dan piuria (Jawetz dkk., 2004)

2.1.2 *Staphylococcus aureus*

Filum	: Firmicutes
Kelas	: Bacili
Ordo	: Bacillales
Famili	: Staphylococcaceae
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Species	: <i>Staphylococcus aureus</i>

(ITIS, 2012)



Gambar 2.1 Morfologi bakteri *Staphylococcus aureus* (Sumber : Greenwood dkk., 2012)

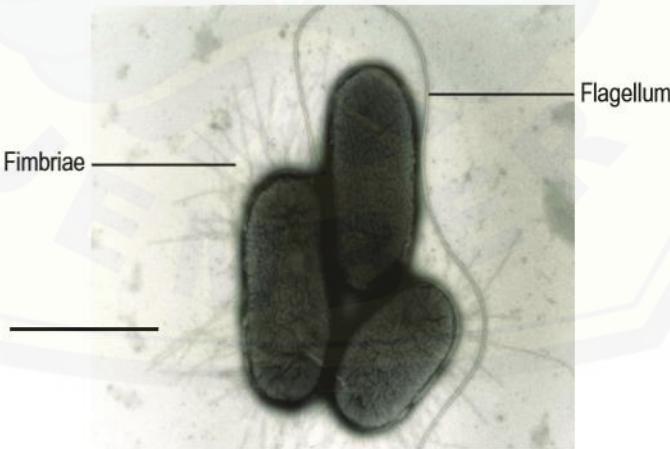
S. aureus adalah bakteri gram positif yang secara makroskopik memiliki ukuran diameter 2-3 mm, dan berwarna putih kekuningan (Greenwood dkk., 2012). Secara mikroskopik *S. aureus* berbentuk halus dan bening, bulat (*coccus*) non motil yang berkelompok dan tidak membentuk spora dengan sifat positif katalase (Soedarto, 2016) Gambar 2.1. Bakteri ini tumbuh cepat pada suhu 37°C yang dapat berkoloni pada media padat dengan permukaan halus dan mengkilat (Jawetz dkk., 2004)

S. aureus dapat ditemukan pada kulit, selaput lendir, dan di mukosa saluran pencernaan (Darmawati dkk., 2015). *S. aureus* pada infeksi saluran kemih (ISK) disebabkan adanya bakterimia yang kemudian berkembang biak dan menyebar secara hematogen (Novard dkk., 2019). *S. aureus* merupakan salah satu bakteri yang resisten terhadap MRSA (*Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*) banyak ditemukan di kulit dan bagian membran mukosa (Soedarto, 2016). Sekitar 80% kolonisasi yang disebabkan oleh *S. aureus* banyak terjadi pada pekerja kesehatan utamanya di Rumah Sakit, penggunaan jarum, penggunaan kateter yang sering pada pasien rawat inap, dan kontak langsung dengan individu yang terinfeksi (Jawetz dkk., 2004)

2.1.3 *Escherichia coli*

Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gamma Proteobacter
Ordo	: Enterobacterales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Spesies	: <i>Escherichia coli</i>

(ITIS, 2012)



Gambar 2.2 Morfologi bakteri *Escherichia coli* (Sumber : Greenwood dkk., 2012)

E. coli adalah bakteri gram negatif yang memiliki bentuk silinder, berspora dan membentuk suatu koloni halus dengan tepian yang jelas. Morfologi *E. coli*

dapat dilihat pada Gambar 2.2. Ciri-ciri pada *E. coli* memberikan hasil positif ketika diperiksa dengan lisin dekarboksilasi, diol, dan fermentasi manitol, serta menghasilkan gas yang berasal dari glukosa (Jawetz dkk., 2004). *E. coli* dapat tumbuh pada suhu optimum 37 °C dan pada pH 5,5-8 (Jawetz dkk., 2013). *E. coli* adalah penyebab paling umum penyakit ISK pada wanita muda di Indonesia sekitar 90% dengan gejala frekuensi kencing disuria, pyuria, dan hematuria (Rowe dkk., 2013). Selain itu, *E. coli* juga menyebabkan diare (Soedarto, 2016), infeksi saluran pencernaan, dan infeksi saluran urinarius (Novard dkk., 2019).

2.2 Tinjauan *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr.

2.2.1 Klasifikasi Tanaman *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr.

Kingdom : Plantae
Sub Kingdom : Viridiplantae
Super divisi : Embryophyta
Divisi : Tracheophyta
Sub Divisi : Spermatophytina
Kelas : Magnoliopsida
Super Ordo : Lilianae
Ordo : Asparagales
Famili : Liliaceae
Genus : *Eleutherine*
Spesies : *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr.
Sinonim : *Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.

(Kementerian Kesehatan RI, 2001)



Gambar 2.3 Morfologi tanaman *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. (Sumber: Dokumentasi Pribadi)

2.2.2 Morfologi dan Deskripsi Tanaman *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr.

Tanaman *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. adalah tumbuhan herba, merambat dan memiliki tinggi 30-40 cm. Tanaman ini memiliki daun tunggal, berbentuk pita, ujung dan pangkal daun berbentuk runcing, bertepi rata dan berwarna hijau. Bunganya bertipe majemuk dan tumbuh di ujung batang. Tanaman ini memiliki kelopak yang terdiri dari dua daun kelopak, berwarna hijau kekuningan. Tanaman ini memiliki mahkota bunga, terdiri dari empat daun mahkota lepas, dan panjangnya berukuran 5 mm, berwarna putih. Tanaman ini memiliki benang sari empat, terdiri dari kepala sari berwarna kuning, putik berbentuk jarum, dan panjangnya sekitar 4 mm. Tanaman ini memiliki akar berbentuk serabut dan berwarna coklat muda (Napitupulu dkk., 2008).

Tanaman *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. berasal dari Amerika tropis, tetapi tanaman ini sudah lama dibudidayakan dan mengalami persebaran ke daerah-daerah tropik lain di wilayah Asia Tenggara. Tanaman ini di Indonesia sudah dibudidayakan di Kalimantan hingga sekarang sudah mulai menyebar sampai Sumatera, Riau, Bali dan Jawa. *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. dapat ditemukan sebagai tanaman hias di pekarangan dan tanaman liar yang biasanya terdapat di daerah pegunungan dengan ketinggian antara 600-1500 mdpl. Selain itu,

Eleutherine americana (Aubl.) Merr. cepat tumbuh di tempat terbuka yang tanahnya kaya dengan humus dan cukup lembab (Dalimartha, 2009).

2.2.3 Nama Daerah Tanaman *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr.

Tanaman *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. secara umum dikenal di Indonesia dengan nama bawang kapal dan bawang merah hutan. Tanaman *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. memiliki beberapa nama daerah yaitu bawang dayak (Palangkaraya, Samarinda); bawang kambe (Dayak); bawang sabrang, bawang siyem (Sunda); brambang sabrang, luluwan sapi, teki sabrang (Jawa); bawang suyup (Melayu) (Dalimartha, 2009).

2.2.4 Kandungan Kimia Tanaman *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr.

Umbi *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. mengandung metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, kuinon, polifenol, triterpenoid, tannin, dan steroid (Puspadiwi dkk., 2013). Kandungan lainnya adalah senyawa naftalen, antrakuinon, naftokuinon dan turunan senyawa antrakuinon yaitu eleutherin, isoceleutherin, eleutherol dan eleutherinol (Insanu dkk., 2014). Pada daunnya mengandung metabolit sekunder flavonoid, saponin, dan fenol (Isnindar, 2014).

2.2.5 Manfaat Tanaman *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr.

Umbi *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. digunakan sebagai diuretik (peluruh kencing), pencahar, dan peluruh muntah (Dalimartha, 2009), sebagai pengobatan diabetes, hipertensi, gangguan seksual, diuretik, emetik, penurunan protrombin, antifertilisasi, dan penyembuhan luka (Insanu dkk., 2014), meningkatkan produksi ASI, kanker payudara, stroke, dan kelainan seksual. Selain itu, secara farmakologis bawang dayak memiliki potensi sebagai antimikroba, dan anti-inflamasi (Jannah dkk., 2018). Daunnya digunakan sebagai antioksidan (Idrus dkk., 2016).

2.3 Tinjauan Ekstraksi

Ekstraksi adalah metode awal yang penting dalam proses analisis obat dari tanaman. Ekstraksi adalah proses penarikan kandungan senyawa aktif dari dalam tumbuhan atau hewan menggunakan pelarut selektif dalam prosedur standar ekstraksi (Longo dkk., 2008). Hasil yang diperoleh dari proses ekstraksi yaitu ekstrak kental yang dilarutkan dengan pelarut yang sesuai dan selanjutnya diuapkan. Beberapa metode ekstraksi yang umum digunakan untuk bahan alam diantaranya maserasi, ultrasonikasi, perkolası, soxhlet, digesti, refluks, infusa, dan dekok (Departemen Kesehatan RI, 2000).

Merasasi adalah proses pengekstrakan simpilisia dengan menggunakan pelarut yang sesuai dengan beberapa kali pengadukan pada temperatur ruang. Pelarut tersebut masuk melalui dinding sel dan menuju ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, sehingga zat aktif tersebut akan terlarut. Metode maserasi dipilih pada penelitian ini, karena pengjerannya sederhana, tidak merusak senyawa tanpa pemanasan, dan tidak memerlukan alat khusus (Azwanida, 2015). Merasasi dilakukan selama 2-3 hari, kemudian dilanjutkan dengan remerasasi dengan dua kali penggantian pelarut dengan beberapa kali pengadukan pada suhu ruang. Pengadukan yang dilakukan pada maserasi bertujuan agar pelarut yang ditambahkan pada sampel dapat kontak langsung dengan senyawa aktif, sehingga senyawa aktif dapat larut (Handa dkk., 2008). Ekstraksi umumnya dilakukan dengan metode maserasi karena hasil randemen ekstraksi yang tinggi. Maserat yang didapat dari hasil ekstraksi, kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu *waterbath* 50°C untuk memisahkan pelarut yang digunakan dengan kandungan senyawanya (Saifudin, 2014). Pelarut yang digunakan pada metode ekstraksi dalam penelitian ini adalah etanol 96%. Etanol 96% digunakan karena termasuk pelarut yang universal dan memiliki daya ekstraksi yang luas, sehingga dapat melarutkan sebagian besar metabolit sekunder (Saifudin, 2014).

2.4 Tinjauan Skrining Fitokimia

Metode yang digunakan untuk mengetahui metabolit sekunder yang terkandung di dalam sampel tanaman adalah skrining fitokimia . Metode skrining ini tergolong sederhana, cepat, dan dapat digunakan untuk membuktikan metabolit sekunder yang terdapat dalam sampel tanaman (Wagner, 1996). Skrining fitokimia bisa dilakukan dengan *tube test* (reaksi pengendapan dan reaksi warna) dan uji KLT. Uji tabung dilakukan dengan mereaksikan sampel ekstrak dengan penambahan reagen tertentu. Pada penelitian, uji KLT dilakukan dengan cara menotolkan larutan sampel ekstrak menggunakan lempeng KLT dan dilakukan eluasi menggunakan kondisi analisis fase gerak yang cocok, sehingga menghasilkan suatu noda karena adanya pemisahan metabolit sekunder berdasarkan tingkat kepolaran suatu senyawa (Harborne, 1998). Beberapa senyawa metabolit sekunder yang diduga mempunyai aktivitas sebagai agen antibakteri dari sampel tumbuhan antara lain senyawa fenolik, polifenol (polifenol sederhana, kuinon, asam fenolat, tanin, kumarin, flavon, flavonoid, flavonol), minyak atsiri, lesitin, polipeptida, alkaloid, dan terpenoid (Kumar dan Pandey, 2013).

2.5 Tinjauan Uji Antibakteri

Langkah awal penelitian untuk mengembangkan senyawa antibakteri baru dilakukan dengan uji antibakteri. Tujuan dilakukannya uji antibakteri ini untuk mengetahui adanya aktivitas antibakteri dari sampel tanaman yang digunakan. Menurut Balouiri dkk. (2016) terdapat beberapa metode yang dapat digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antibakteri diantaranya adalah metode difusi, metode dilusi, metode KLT bioautografi. Metode untuk uji aktivitas antibakteri yang sering digunakan dan mendasar adalah metode difusi (Balouiri dkk., 2016).

Metode difusi yang sering digunakan dalam penelitian adalah difusi cakram dan difusi sumuran. Prinsip prosedur penggunaan kedua metode difusi adalah sama yaitu permukaan plat agar diinokulasikan dengan menyebarkan volume bakteri sejumlah 20-100 μL . Pengujian dengan difusi sumuran dilakukan dengan membuat

lubang dengan *disk*, *tip*, atau gabus yang steril dengan ukuran 6-8 mm pada permukaan agar (Balouiri dkk., 2016).

Metode uji yang dipilih pada penelitian ini yaitu metode difusi cakram. Menurut Balouiri dkk. (2016), tujuan digunakan difusi cakram untuk mengetahui diameter zona hambat yang ditandai dengan adanya zona bening yang terbentuk di sekitar cakram uji. Keunggulan utama digunakan difusi cakram adalah teknik pengerjaannya mudah, tidak menggunakan alat khusus, biaya relatif murah, skrining uji pada isolat dalam jumlah besar, dan modifikasi uji antimikroba dengan cakram mudah dilakukan. Sedangkan, kekurangan metode difusi cakram adalah dalam menganalisis pengukuran zona hambat yang dilakukan secara manual dengan menggunakan jangka sorong, sehingga membutuhkan waktu yang cukup lama (Balouiri dkk., 2016).

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian yang dilakukan adalah jenis penelitian *true experimental laboratories* yang digunakan untuk tujuan mengetahui aktivitas antibakteri pada ekstrak etanol daun *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dan untuk mengetahui adanya senyawa metabolit sekunder ekstrak etanol daun *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fitokimia dan Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Fakultas Farmasi Universitas Jember mulai bulan September 2019 sampai Januari 2020.

3.3 Alat dan Bahan Penelitian

3.3.1 Alat

Alat-alat yang digunakan adalah vial, tabung reaksi (IWAKI), rak tabung reaksi, pipet tetes, jarum ose, *blue tip*, *yellow tip*, mikropipet (Socorex), bunsen, spatula logam, *alumunium foil*, *vortex* (Labnet), corong *buchner*, timbangan analitik (Sartonius CP224S), seperangkat alat KLT (Kromatografi Lapis Tipis), kertas saring, pinset, blender, seperangkat *rotary evaporator* (Heidolph), oven (Memmert), *hot plate*, inkubator (Gallenkamp), autoklaf (ALP), *blank disc* (oxoid), *waterbath*, *plastic wrap*, dan jangka sorong.

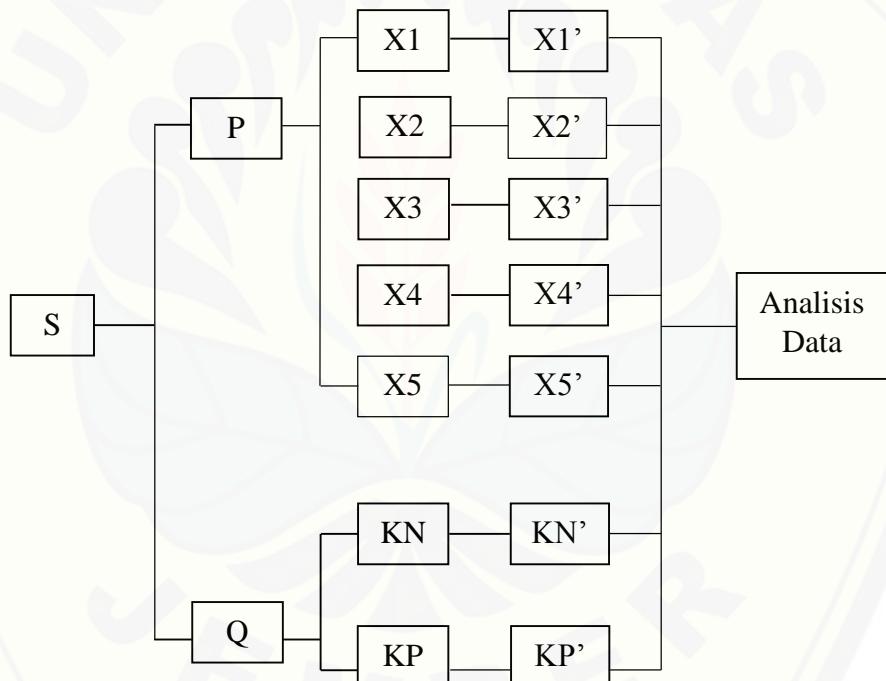
3.3.2 Bahan

Tanaman bagian daun *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. dari petani Desa Klaseman Kecamatan Gending Kabupaten Probolinggo yang telah dideterminasi di UPT Laboratorium Herbal Medica Batu Jalan Lahor No.87 Kota Batu Malang No: 074/ 463B/ 102.7/ 2019. Pelarut untuk maserasi adalah etanol 96%, media *Muller Hinton Agar* (MHA), dan *Nutrient Agar* (NA), bakteri

Staphylococcus aureus ATCC 33591 dan *Escherichia coli* ATCC 25922, cakram gentamisin, NaCl fisiologis 0,9% dan dimetil sulfoksida (DMSO) 10%.

3.4 Rancangan Penelitian

Rancangan yang digunakan dalam penelitian uji aktivitas ekstrak etanol daun *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. adalah *the post test only control group design*. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram. Penelitian terbagi atas kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Metode difusi cakram ini akan menghasilkan diameter zona hambat yang diukur pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Rancangan penelitian ditunjukkan pada gambar 3.1.



Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian uji

Keterangan :

S = sampel

P = kelompok perlakuan

Q = kelompok kontrol

X₁₋₅ = kelompok perlakuan berbagai konsentrasi sampel

KN = kontrol negatif (DMSO 10%)

KP = kontrol positif (gentamisin cakram 10 µg)

X₁₋₅' = data hasil pada kelompok perlakuan berbagai konsentrasi sampel

KN' = data hasil kontrol negatif (DMSO 10%)

KP' = data hasil kontrol positif (gentamisin cakram 10 µg)

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak etanol daun *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. yaitu 1%, 5%, 10%, 20%, dan 40%.

3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun *Eleutherine americana* dengan metode difusi cakram adalah zona hambat terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

3.5.3 Variabel Terkendali

Variabel terkendali pada penelitian ini adalah pembuatan simplisia daun *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. metode ekstraksi maserasi, metode difusi cakram, waktu inkubasi, dan cara pengukuran diameter zona hambat.

3.6 Definisi Operasional

Definisi operasional pada penelitian ini adalah :

1. Daun *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. yang digunakan pada penelitian ini diambil bulan September 2019 pada musim kemarau di Desa Klaseman Kecamatan Gending Kabupaten Probolinggo dengan ketinggian 25 mdpl
2. Sampel tanaman bawang dayak dilakukan identifikasi di UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Kota Batu Malang sebagai *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr.
3. Konsentrasi ekstrak etanol daun *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. yang digunakan sebagai larutan uji yaitu 1%, 5%, 10%, 20%, dan 40%.
4. Zona hambat pada uji aktivitas antibakteri daun *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. diukur sebagai diameter zona hambat yaitu zona bening yang terdapat disekitar cakram dengan menggunakan alat bantu jangka sorong

3.7 Prosedur Kerja

3.7.1 Determinasi Tanaman *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr.

Semua bagian sampel tanaman *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. dilakukan determinasi di UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Kota Batu Malang untuk membuktikan bahwa pengambilan bahan tanaman yang akan digunakan pada penelitian benar-benar tanaman *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr.

3.7.2 Pembuatan Simplisia

Sampel daun *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. yang dipilih disortir terlebih dahulu untuk dipisahkan dari daun yang kurang baik. Setelah itu, daun dicuci untuk menghilangkan kotoran yang melekat. Kemudian, daun dirajang untuk mempermudah proses pengeringan dan penggilingan. Selanjutnya, daun dikeringkan pada udara terbuka dan terhindar dari sinar matahari langsung. Kemudian, daun dimasukkan dalam oven dengan suhu 40-50°C hingga diperoleh simplisia daun *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. Daun yang telah kering kemudian dihaluskan menggunakan alat penggiling sampai terbentuk serbuk. Serbuk yang diperoleh ditimbang untuk selanjutnya dilakukan proses ekstraksi.

3.7.3 Pembuatan Ekstrak Daun *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr.

Pembuatan ekstrak daun *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. dilakukan secara maserasi dengan pengadukan. Serbuk sampel ditimbang 200 gram dan dimasukkan ke dalam maserator kemudian direndam dengan pelarut etanol 96% (perbandingan 1:10) sebanyak 2 liter selama 3 hari dilakukan pengadukan setiap 24 jam. Selanjutnya, maserat disaring dan dipisahkan residunya dengan menggunakan kertas saring dengan corong *buchner*. Kemudian, residunya dimasukkan kembali ke dalam maserator dan diremaserasi lagi dengan menambahkan pelarut yang sama. Hasil filtrat yang telah disaring selanjutnya diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C dengan kecepatan 90 rpm dan dikeringkan pada lemari asam. Hasil ekstrak kemudian disimpan dalam gelas kaca hingga akan digunakan selanjutnya.

3.7.4 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui metabolit sekunder atau golongan senyawa yang terkandung dalam sampel ekstrak tanaman. Pada penelitian ini dilakukan skrining fitokimia berdasarkan Harborne (1998) dengan menggunakan *tube test* dan KLT (Kromatografi Lapis Tipis) sebagai berikut :

1) Identifikasi Metabolit Sekunder Golongan Alkaloid

a. Reaksi Pengendapan

Ekstrak etanol daun *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. sejumlah 0,3 g ditambahkan 5 mL HCL 2N dicampur dalam tabung reaksi. Kemudian, tabung reaksi dipanaskan menggunakan penangas air selama 2-3 menit sambil diaduk. Kemudian, 0,3 g NaCl ditambahkan dalam tabung reaksi sambil diaduk sampai homogen. Kemudian, larutan ekstrak disaring dan ditambahkan 5mL HCL 2N dibagi menjadi 3 bagian yaitu larutan 1A, 1B, 1C. Kemudian, larutan 1A ditambah pereaksi Mayer, dan larutan 1B ditambah pereaksi Wagner. Jika terdapat endapan berwarna putih pada larutan 1B, dan terdapat endapan berwarna coklat untuk larutan 1C maka hasil uji dinyatakan positif.

b. Identifikasi KLT

Larutan IC dibasakan dengan penambahan NH₄OH 28%. Setelah itu, ditambah 5 mL kloroform dan disaring. Filtrat diuapkan hingga kering dan kemudian ditambah metanol supaya larut. Setelah itu, dilakukan uji dengan metode KLT menggunakan fase diam Silica gel GF₂₅₄ dan fase geraknya menggunakan etil asetat: metanol: air (9:2:2) dengan penampak noda berupa pereaksi Dragendorf. Adanya alkaloid dalam ekstrak ditandai dengan perubahan warna menjadi jingga.

2) Identifikasi Metabolit Sekunder Golongan Saponin, Triterpenoid, dan Steroid

a. Uji Buih

Ekstrak etanol daun *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. sejumlah 0,3 g dilarutkan dengan akuades dalam tabung reaksi, lalu dikocok dengan kuat

selama 30 detik. Apabila terbentuk busa dengan tinggi 3 cm yang konsisten selama 30 menit menunjukkan positif mengandung saponin.

b. Reaksi Warna

Ekstrak etanol daun *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. sejumlah 0,3 g dilarutkan ke dalam 15 mL etanol, kemudian dibagi menjadi 3 bagian sebagai larutan 2A, 2B, 2C. Larutan 2A sebagai blanko, kemudian larutan 2B ditambah 3 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes H₂SO₄ pekat sebagai pereaksi uji Liebermann-Burchard. Hasil positif triterpen steroid ditunjukkan apabila timbul warna merah ungu, dan adanya saponin jenuh ditunjukkan apabila timbul warna kuning. Larutan 2C digunakan untuk uji salkowski dengan ditambah 1-2 mL H₂SO₄ pekat melalui dinding tabung reaksi. Apabila terdapat cincin berwarna merah menunjukkan adanya steroid tak jenuh.

c. Identifikasi KLT

Sejumlah 0,3 g ekstrak etanol daun *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. ditambah 5 mL HCl 2N kemudian dididihkan dan ditutup corong yang sudah diberi kapas basah selama 2 jam untuk menghidrolisis saponin. Larutan didinginkan dan dinetralkan dengan ammonia. Kemudian, ekstraksi dilakukan dengan 3 mL n-heksana sebanyak 3 kali. Selanjutnya, larutan diuapkan hingga 0,5mL dan ditotolkan pada plat KLT dengan menggunakan fase diam Silica gel GF₂₅₄ dan fase gerak berupa n-heksana: etil asetat (4:1) dengan anisaldehida asam sulfat sebagai penampak noda, lalu dipanaskan. Jika terjadi perubahan warna merah ungu, maka menunjukkan sapogenin. Sedangkan, untuk identifikasi terpenoid dan steroid bebas menggunakan larutan blanko atau larutan 2A, kemudian larutan tersebut ditotolkan pada plat KLT dengan kondisi analisis yang sama. Adanya terpenoid atau steroid bebas ditunjukkan dengan terjadinya warna merah ungu atau ungu saja.

3) Identifikasi Metabolit Sekunder Golongan Flavonoid

a. Reaksi Warna

Ekstrak etanol daun *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. sejumlah 0,3 g ditambah 3 mL n-heksana dikocok hingga tidak timbul warna. Kemudian, residu dilarutkan dengan metanol dan dibagi menjadi 4 bagian sebagai larutan 3A, 3B, 3C, dan 3D. Larutan 3A untuk blanko, kemudian larutan 3B digunakan uji dengan pereaksi Bate-Smith dan Metcalf. Apabila timbul warna merah terang atau ungu, maka menunjukkan adanya senyawa leukoantosianin. Larutan 3C sebagai uji Wilstater ditambah dengan 0,5 mL HCL pekat dan 4 potong magnesium. Kemudian, larutan diencerkan dengan 0,5 mL akuades dan 1 mL butanol. Kemudian, akan timbul warna pada setiap lapisan. Adanya warna merah jingga menunjukkan adanya flavon, perubahan warna merah pucat menunjukkan adanya flavonol, dan perubahan warna merah tua menunjukkan adanya flavonon.

b. Identifikasi KLT

Larutan 3D ditotolkan pada plat KLT dengan kondisi analisis fase diam Silica gel GF₂₅₄, digunakan fase gerak butanol: asam asetat glasial: air (4:1:5), dan digunakan uap ammonia untuk penampak noda. Jika terdapat noda berwarna kuning intensif, maka menunjukkan adanya senyawa flavonoid.

4) Identifikasi Metabolit Sekunder Golongan Polifenol dan Tanin

a. Reaksi Warna

Ekstrak etanol daun *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. sejumlah 0,3 g dilarutkan menggunakan akuades dalam tabung reaksi dan diaduk hingga homogen. Kemudian, sampel larutan ditambahkan NaCl 10%, selanjutnya diaduk dan disaring. Kemudian, filtrat dibagi menjadi 3 bagian sebagai larutan 4A, 4B, 4C, dan 4C. Larutan 4A sebagai blanko, larutan 4B digunakan untuk uji gelati. Apabila terdapat endapan berwarna putih karena penambahan gelatin, maka menunjukkan adanya tanin. Larutan 4C untuk uji ferriklorida dengan pemberian beberapa tetes FeCl₃. Apabila terdapat adanya tanin akan timbul perubahan warna hijau kehitaman. Apabila pada

pemberian gelatin dan NaCl 10% tidak timbul endapan, tetapi saat ditambahkan dengan larutan FeCl₃ menunjukkan warna hijau biru hingga hitam, maka menunjukkan adanya polifenol.

b. Identifikasi KLT

Uji KLT dilakukan dengan menggunakan fase diam berupa Silica gel GF₂₅₄ dan fase gerak berupa kloroform: etil asetat (1:9) dengan penampak noda berupa FeCl₃. Jika terdapat noda warna hitam, maka menunjukkan adanya senyawa polifenol.

3.8 Uji Aktivitas Antibakteri

3.8.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Semua peralatan gelas, *bluetip*, *yellowtip* serta media untuk penelitian dilakukan sterilisasi dahulu. Kemudian, dilakukan pencucian alat dan pembungkusan dengan coklat untuk sebelum dilakukan sterilisasi. Kemudian, sterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan waktu selama 15 menit. Sterilisasi menggunakan alkohol dilakukan untuk alat yang tidak tahan pemanasan, dan sterilisasi menggunakan pemijaran untuk peralatan seperti pinset dan jarum ose.

3.8.2 Pembuatan Media

a. *Nutrien Agar* (NA)

Media *Nutrien Agar* (NA) ditimbang sebanyak 1,15 gram dicampur dengan 50 mL akuades steril ke dalam erlenmeyer. Kemudian, media NA dipanaskan sampai larut dan jernih. Selanjutnya, larutan media sebanyak 5 mL media dituang ke dalam tabung reaksi steril sebagai media biakan bakteri. Kemudian, dilakukan sterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan lama waktu 15 menit. Media NA yang berada dalam tabung reaksi dimiringkan 30-45° agar terbentuk media agar miring dan ditunggu hingga dingin, kemudian dimasukkan ke dalam lemari pendingin.

b. *Mueller Hinton Agar* (MHA)

Media *Muller Hinton Agar* (MHA) ditimbang sebanyak 1,9 gram dicampur dengan 50 mL akuades steril ke dalam erlenmeyer. Kemudian, media MHA diaduk dan dipanaskan hingga larutan jernih, kemudian dilakukan sterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Kemudian, media MHA dituang ke dalam cawan petri steril masing-masing 15 mL secara aseptis.

3.8.3 Peremajaan Biakan Murni

Bakteri uji *S. aureus* ATCC 33591 dan *E. coli* ATCC 25922 diremajakan pada media NA didalam tabung reaksi dengan mengoreskan sejumlah bakteri dengan menggunakan jarum ose dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

3.8.4 Peremajaan Biakan Bakteri

Bakteri *S. aureus* dan *E. coli* yang tumbuh dibiakkan dengan mengambil beberapa koloni bakteri dengan menggunakan jarum ose pada media agar miring secara aseptis, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 jam.

3.8.5 Pembuatan Suspensi Bakteri

Pembiakan aktif *S. aureus* dan *E. coli* dilakukan dengan cara mengambil koloni bakteri pada media NA dengan menggunakan jarum ose secara aseptis ke dalam 10 mL NaCl 0,9% kemudian, divortex hingga homogen. Kekeruhan pada suspensi biakan aktif bakteri disesuaikan dengan kekeruhan suspensi standard Mc Farland 0,5.

3.8.6 Pembuatan Suspensi Mc Farland 0,5

BaCl₂ pekat sebanyak 0,05 mL dengan H₂SO₄ 1% sebanyak 9,95 mL hingga setara dengan $1,5 \times 10^8$ CFU/mL. Selanjutnya divortex sampai campuran H₂SO₄ 1% dan BaCl₂ 1% menjadi homogen. Larutan suspensi Mc Farland diukur menggunakan spektrofotometer Uv-Vis. pada panjang gelombang 625 nm dan hasil transmitan yang diperoleh adalah 84,7 %.

3.8.7 Pembuatan Kontrol Negatif

Pembuatan kontrol negatif untuk uji aktivitas antibakteri ekstrak adalah dengan larutan DMSO 10% sebanyak 10 bagian DMSO 100% dilarutkan ke dalam 90 bagian akuades steril.

3.8.8 Penyiapan Kontrol Positif

Kontrol positif untuk uji aktivitas antibakteri pada metode difusi cakram adalah cakram gentamisin dengan konsentrasi 10 μg .

3.8.9 Pembuatan Larutan Uji

Pembuatan larutan uji dengan dilakukan dengan menimbang ekstrak etanol daun *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. sebanyak 0,4 gram dan dilarutkan dalam 1 mL DMSO 10%. Pembuatan larutan uji pada konsentrasi 1%, 5%, 10%, dan 20% didapatkan dari pengenceran larutan uji 40% dengan penambahan pelarut DMSO 10%.

3.8.10 Uji Aktivitas Antibakteri

Penentuan uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. menggunakan metode difusi cakram. Uji antibakteri dilakukan pada media MHA yang dituang terlebih dahulu dalam cawan petri steril, kemudian ditunggu hingga media memadat. Permukaan media MHA diinokulasi dengan mengambil inokulum bakteri dari biakan aktif yang telah disiapkan sebanyak 100 μL . Kemudian, biakan aktif yang sudah dimasukkan pada media MHA diratakan dengan *spreader*. Selanjutnya, pada tiap-tiap konsentrasi larutan uji ekstrak dan kontrol negatif dipipet 15 μL , lalu ditambahkan dalam kertas cakram steril, kemudian dibiarkan selama 24 jam di bawah LAF. Selanjutnya, kertas cakram yang telah terisi larutan uji diletakkan pada media MHA. Kemudian, kontrol positif dan kontrol negatif juga diletakkan pada media MHA pada permukaan atas agar dengan menggunakan pinset steril. Setelah itu, cawan petri dibungkus dengan *plastic wrap*, kemudian dilakukan inkubasi pada suhu 37°C selama 18 jam dalam inkubator. Pengukuran zona hambat dilakukan dengan mengukur zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram dengan

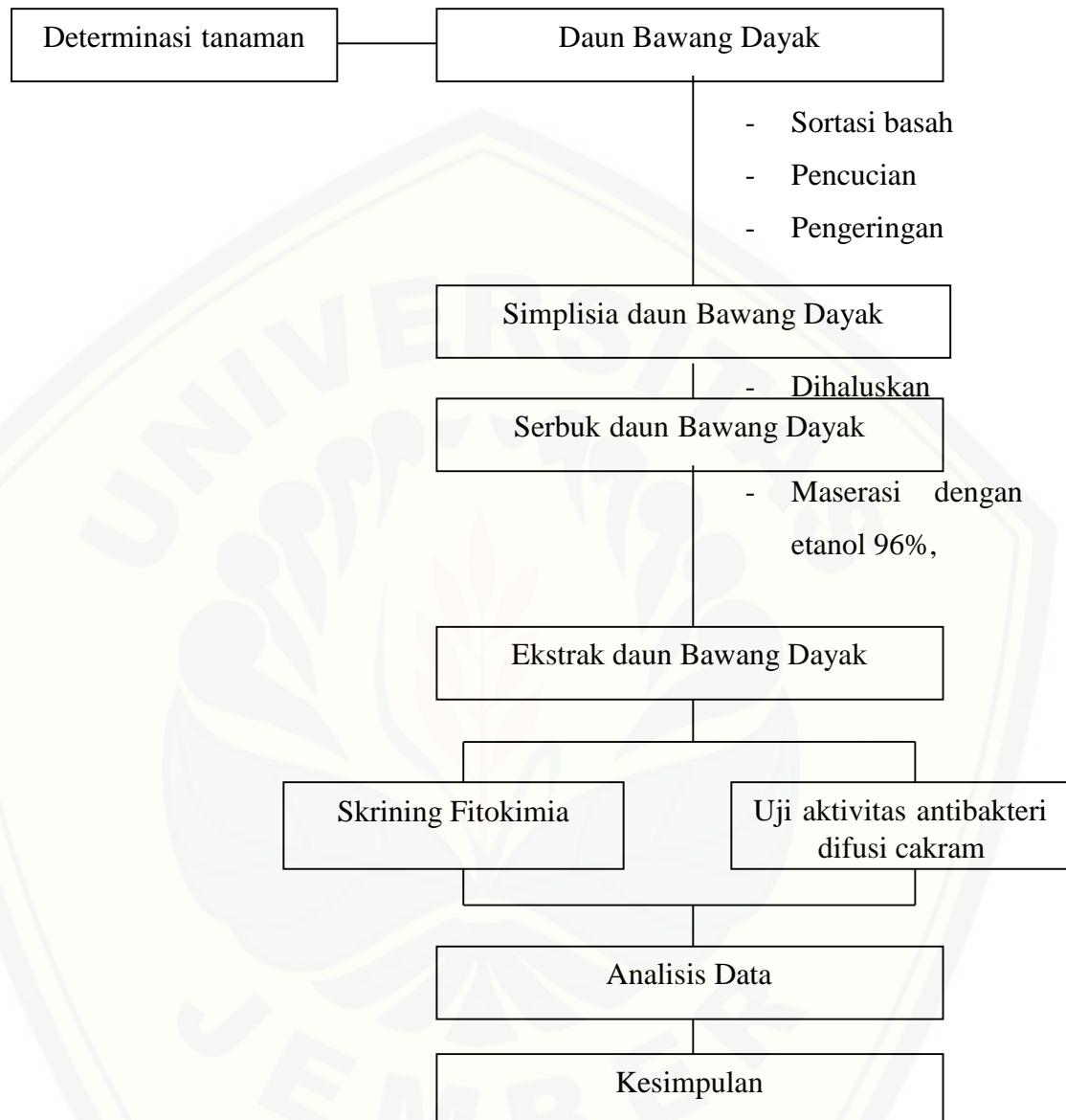
menggunakan jangka sorong. Pengukuran dilakukan dari beberapa sudut pada masing-masing konsentrasi uji.

3.9 Analisis Data

Data hasil diameter zona hambat yang diperoleh berdasarkan hasil uji antibakteri dilakukan analisis statistik dengan taraf kepercayaan 95%. Tujuan dilakukan analisis ini untuk mengetahui ada perbedaan yang signifikan pada kelompok uji terhadap bakteri uji. Analisis awal yang dilakukan yaitu uji normalitas dan homogenitas untuk mengetahui data terdistribusi secara normal dan homogen yang ditunjukkan dengan nilai signifikansi $> 0,05$. Transformasi data dilakukan apabila diperoleh data yang tidak normal dan tidak homogen. Analisis parametrik dengan uji *One Way Anova* dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan bermakna dari masing-masing kelompok uji. Kemudian, dilanjutkan dengan analisis dengan LSD (*Least Significant Difference*) untuk mengetahui kelompok uji yang berbeda bermakna dengan nilai signifikansi $< 0,05$. Data hasil pengujian antibakteri diperoleh diameter zona hambat kemudian, dilakukan analisis menggunakan *Independent-sampel T Test* bertujuan untuk membandingkan rata-rata dari dua kelompok yang tidak berhubungan antara satu sama lain yang ditunjukkan dengan nilai signifikansi $< 0,05$ (Santoso, 2018).

3.10 Skema Penelitian

Skema prosedur penelitian ini :



Gambar 3.2 Skema Kerja Penelitian

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan pada penelitian ini dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

- a. Ekstrak etanol daun *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. positif mengandung senyawa alkaloid, terpenoid/steroid bebas, polifenol dan tanin.
- b. Ekstrak etanol daun *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* pada konsentrasi 5%, 10%, 20%, dan 40% (b/v) yang dibuktikan dengan zona hambat yang dihasilkan berturut-turut sebesar $8,31 \pm 0,42$ mm; $9,42 \pm 0,23$ mm; $11,25 \pm 0,18$ mm; dan $12,25 \pm 0,17$ mm dan memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* pada konsentrasi 5%, 10%, 20%, dan 40% (b/v) yang dibuktikan dengan zona hambat yang dihasilkan berturut-turut sebesar $6,77 \pm 0,09$ mm; $7,91 \pm 0,22$ mm; $8,49 \pm 0,15$ mm; dan $9,57 \pm 0,37$ mm.

5.2 Saran

Dari hasil penelitian yang diperoleh, perlu dilakukan lebih lanjut mengenai :

- a. Penetapan kadar total dari golongan senyawa aktif dalam ekstrak etanol daun *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. yang berpotensi sebagai aktivitas antibakteri.
- b. Uji antibakteri ekstrak dan fraksi daun *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. dengan metode dilusi.

DAFTAR PUSTAKA

- Amanda, R. F. 2014. Efektivitas ekstrak bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. *Syarif Hidayatulloh Jakarta*.
- Azwanida, N. 2015. A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. *Medicinal & Aromatic Plants*. 04(03):3–8.
- Balouiri, M., M. Sadiki, dan S. K. Ibnsouda. 2016. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: a review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 6(2):71–79.
- Bone, M., Y. Rifai, dan G. Alam. 2019. Karakterisasi senyawa bioaktif antimikroba ekstrak umbi bawang tiwai (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb.). *Jurnal Sains Dan Kesehatan*. 2019. Vol 2. No 1. p-ISSN: 2303-0267, e-ISSN: 2407-6082. 2(1):1–18.
- Brooks, G. F., J. S. Butel, dan S. A. Morse. 2004. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi 23th. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Brooks, G. F., K. C. Carroll, J. S. Butel, S. A. Morse, dan T. A. Mietzner. 2013. *Medical Microbiology*. Edisi 26th. United States: McGraw Hill. 186.
- Cartwright, R. 2010. Plant drug analysis. *Perspectives in Public Health*. 130(5):239–239.
- CLSI. 2012. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test for Bacteria That Grow Aerobically*; Approved Standard-Ninth Edition. Dalam Clinical and Laboratory Standards Institute. Wayne.
- CLSI. 2016. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. Dalam Clinical and Laboratory Standards Institute. Editor P. A. Wayne. CLSI supplement M100S.
- Dalimartha, S. 2003. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Edisi 3th. Depok: Puspa Swara.
- Darmawati, S., W. Asmara, dan M. Kawaichi. 2015. Identification of *Staphylococcus* sp. strains isolated from positive widal blood based on 16s rRNA gene sequences. *Internat. Journal of Science and Engineering (IJSE)*. 9(October):97–100.
- de Brito, R. C., G. N. da Silva, T. C. Farias, P. B. Ferreira, dan S. B. Ferreira. 2017. Standardization of The Safety Level of The Use of DMSO in Viability Assays in Bacterial Cells. *International Conference Series on Multidisciplinary Sciences*. 3:1–6.

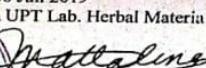
- Departemen Kesehatan RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: DirJen POM.
- Dipiro, J. T., R. L. Talbert, G. C. Yee, G. R. Matzke, B. G. Wells, dan L. M. Posey. 2008. *Pharmacotherapy Dipiro*. Edisi 7th. United States: McGraw Hill. 9.
- Endriani, R., F. Andini, dan D. Alfina. 2009. Pola resistensi bakteri penyebab infeksi saluran kemih (ISK) terhadap antibakteri di Pekanbaru. *Jurnal Natur Indonesia*. 12(2):130–135.
- Greenwood, D., M. R. Barer, R. C. B. Slack, dan W. L. Irving. 2012. *Medical Microbiology*. Edisi 18th. England: Churchill Livingstone.
- Handa, S. S., S. P. S. Khanuja, G. Longo, dan D. D. Rakesh. 2008. *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*. United States: International Centre for Science and High Technology.
- Harborne, J. B. 1998. *Phytochemical Methods*. Edisi 3th. London: Chapman & Hall.
- Harlita, T. D., Oedjijona, dan A. Asnani. 2018. The Antibacterial Activity of Dayak Onion (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr) Towards Pathogenic Bacteria. *Tropical Life Sciences Research*. 29(2):39–52.
- Ibrahim, M. 2007. *Mikrobiologi: Prinsip Dan Aplikasi*. Surabaya: Unesa University Press.
- Idrus, H. R. Al, I. Iswahyudi, dan S. Wahdaningsih. 2016. Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun bawang mekah (*Eleutherine americana* Merr.) terhadap gambaran histopatologi paru tikus (*Rattus norvegicus*) wistar jantan pasca paparan asap rokok. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 1(2).
- Insanu, M., S. Kusmardiyan, dan R. Hartati. 2014. Recent studies on phytochemicals and pharmacological effects of *Eleutherine americana* Merr. *Procedia Chemistry*. 13:221–228.
- Irawan, E. dan D. A. N. Hilman. 2018. Faktor-faktor penyebab infeksi saluran kemih. *Prosiding Seminar Nasional Dan Diseminasi Penelitian Kesehatan*. (21 April):2018.
- Isnindar. 2014. Aktivitas antioksidan daun bawang mekah (*Eleutherine americana* Merr.) dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). *As-Syifa*. 06(01).
- ITIS. 2012. *Staphylococcus aureus* taxonomic serial no.: 369. *Bacterial Nomenclature Up-to-Date, Website (Version Jun 2012)* [Diakses pada September 20, 2019].
- ITIS. 2012. *Escherichia Coli* Taxonomic Serial No.: 285. https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=285#null [Diakses pada September 20, 2019].

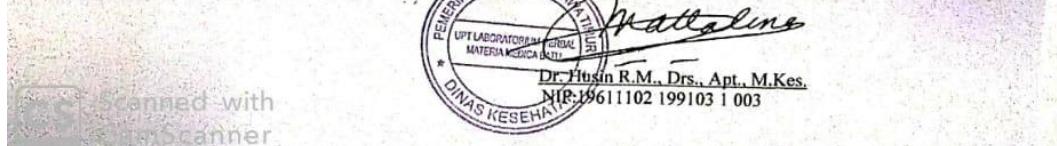
- Jannah, N., Yustina, D. N. Mahedra, T. S. Sumantri, dan R. A. Husna. 2018. Pengaruh pemberian ekstrak umbi bawang dayak (*Eleutherine americana* Merr.) terhadap penurunan kolesterol pada tikus jantan putih galur wistar. *Al-Kauniyah: Jurnal Biologi*. 11(1):33–40.
- Karlina, C. yudha. 2013. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Herba Krokot (*Portulaca oleracea* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *LenteraBio*. 2(1):87–93.
- Karou, D., M. H. Dicko, J. Simpore, dan A. S. Traore. 2005. Antioxidant and Antibacterial Activities of Polyphenols From Ethnomedicinal Plants of Burkina Faso. *African Journal of Biotechnology*. 4(8):823–828.
- Kumar, S. dan A. K. Pandey. 2013. Chemistry and biological activities of flavonoids. *The Scientific World Journal*. 16.
- Musdalipah. 2018. Identifikasi drug related problem (DRP) pada pasien infeksi saluran kemih di Rumah Sakit Bhayangkara Kendari. *Jurnal Kesehatan*. 11(1):39–50.
- Napitupulu, R., L. S. Wisaksono, Efizal, L. Mooduto, T. Herawaty, A. Novianti, S. Wahyu, dan Tumino. 2008. *Taksonomi Koleksi Tanaman Obat Kebun Tanaman Obat Citeureup*. Jakarta Pusat: Direktorat Obat Asli Indonesia.
- Novard, F. A., N. Suharti, dan R. Rasyid. 2019. Gambaran bakteri penyebab infeksi pada anak berdasarkan jenis spesimen dan pola resistensinya di laboratorium RSUP Dr. M. Djamil Padang tahun 2014-2016. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 8:27–32.
- Novaryatiin, S., A. Ramli, dan S. D. Ardhany. 2019. Uji daya hambat ekstrak etanol bawang dayak (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Surya Medika*. 4(2):51–59.
- Patel, B. J., R. F. Cockerill, M. G. Eliopoulos, S. J. Lewis, B. Limbago, P. David Nicolau, M. Powel, S. S. Richter, M. J. Swenson, P. M. Weinstein, dan L. B. Zimmer. 2016. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. Edisi 26th. USA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Purnamasari, L., A. Ahmad, dan L. Purnamasari. 2006. Detection of *Escherichia coli* in children stool with diarrhea patients using culture. *Nusantara Medical Science Journal*. 1:22–27.
- Puspadiwi, R., P. Adirestuti, dan R. Menawati. 2013. Khasiat umbi bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) sebagai herbal antimikroba kulit. *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi*. 1(1).
- Rosidah, A. N., P. E. Lestari, dan P. Astuti. 2014. Daya Antibakteri Ekstrak Daun Kendali (*Hippobroma longiflora* [L] G. Don) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *Jurnal Pustaka Kesehatan*. 1:1–7.

- Rowe, A., M. Juthani, dan Mehta. 2013. Urinary tract infection in older adults in long-term care facilities. *Aging Health.* 188(12):899.
- Saifudin, A. 2014. *Senyawa Alam Metabolit Sekunder.* Yogyakarta: Deepublish.
- Santoso, S. 2018. *Menguasai Statistik dengan SPSS.* Jakarta: PT Elex Media Komputindo.
- Soedarto. 2016. *Infeksi Nosokomial Di Rumah Sakit.* Edisi 1. Jakarta: CV. Sagung Seto.
- Wagner, H. dan B. 1996. *Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas.* New York: Springer.
- Weinstein, M. P., J. B. Patel, S. Campeau, B. Limbago, J. S. Lewis, dan S. K. Cullen. 2019. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. *Clinical and Laboratory Standard Institute.* 39(6):49.
- Wijayanti, S. D. dan N. Hasyati. 2018. Potensi ekstrak umbi bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) dalam mencegah ulcerative colitis pada mencit yang diinduksi DSS (Dextran Sulfate Sodium). *Jurnal Ilmu Pangan dan Hasil Pertanian.* 2(1):40.

LAMPIRAN

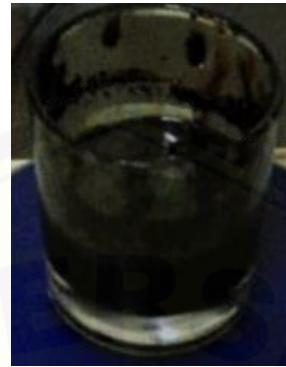
Lampiran A. Hasil Determinasi Tanaman *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr.

	<p style="text-align: center;">PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR DINAS KESEHATAN UPT LABORATORIUM HERBAL MATERIA MEDICA BATU Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396 KOTA BATU 65313</p>																																				
<p>Nomor : 074/ 463B/ 102.7/ 2019 Sifat : Biasa Perihal : <u>Determinasi Tanaman Bawang Dayak</u></p> <p>Memenuhi permohonan saudara :</p> <table border="0" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 10%;">Nama / NIM</td> <td>: 1. ZIDNI HAFIZHA / 152210101019 2. ALWI ROBIYANTO / 152210101022 3. ILHAM ROBBYNOOR S. / 152210101036</td> </tr> <tr> <td>Fakultas</td> <td>: FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS JEMBER</td> </tr> </table> <p>1. Perihal determinasi tanaman bawang merah hutan</p> <table border="0" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 10%;">Kingdom</td> <td>: Plantae (Tumbuhan)</td> </tr> <tr> <td>Divisi</td> <td>: Spermatophyta</td> </tr> <tr> <td>Sub Divisi</td> <td>: Angiospermae</td> </tr> <tr> <td>Kelas</td> <td>: Monocotyledonae</td> </tr> <tr> <td>Ordo</td> <td>: Liliales</td> </tr> <tr> <td>Famili</td> <td>: Liliaceae</td> </tr> <tr> <td>Genus</td> <td>: Eleutherine</td> </tr> <tr> <td>Spesies</td> <td>: <i>Eleutherine americana</i> (Aubl.) Merr.</td> </tr> <tr> <td>Sinonim</td> <td>: <i>Eleutherine bulbosa</i>, <i>E. plicata</i> Herb., <i>E. palmifolia</i> (L.) Merr.</td> </tr> <tr> <td>Nama Umum</td> <td>: Bawang sabrang, bawang tiwai, bawang dayak, bawang berlian, bawang kapal, bawang kambe, brambang sabrang.</td> </tr> <tr> <td>Kunci determinasi</td> <td>: 1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31a-32a-33b-35a-36d-37b-38b-39b-41b-42b-44b-45b-46e-50b-51b-53b-54b-56b-57b-58b-59d-72b-73b-74a-75b-76b-333b-334b-335a-336a-337b-338b-341b-342b-343b-344a-1a-2a-3b-4a-5a-9-1.</td> </tr> <tr> <td>2. Morfologi</td> <td>: Habitus: Herba, semusim, tinggi 30-40 cm. Batang: Semu, umbi berlapis bulat telur, merah. Daun: Tunggal, bentuk pita, ujung dan pangkal runcing, tepi rata, hijau. Bunga: Majemuk, tumbuh di ujung batang, panjang tangkai \pm40 cm, bentuk silindris, kelopak terdiri dari dua daun kelopak, hijau kekuningan, mahkota terdiri dari empat daun mahkota, lepas, panjang \pm5 mm, putih, benang sari empat kepala sari kuning, putik bentuk jarum, panjang \pm4 mm, putih kekuningan. Akar: Serabut, ceklat muda.</td> </tr> <tr> <td>3. Nama Simplicia</td> <td>: <i>Eleutherinii Folium</i> / Daun Bawang Sabrang.</td> </tr> <tr> <td>4. Asal Tanaman</td> <td>: Klaseman, Gending, Probolinggo, Jawa Timur.</td> </tr> <tr> <td>5. Penggunaan</td> <td>: Penelitian</td> </tr> <tr> <td>6. Daftar Pustaka</td> <td> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Anonim. http://ff.unair.ac.id/sito/index.php?search=Eleutherine+Americana, diakses tanggal 16 Juni 2010. ▪ Anonim. http://www.warintek.ristek.go.id/pangan_kesehatan/tanaman_obat/depkes/1-112.pdf, diakses tanggal 23 Oktober 2010. ▪ Backer, C.A. & Bakhuizen Van Den Brink, R.C. 1963. <i>Flora of Java (Spermatophytes Only)</i>. N.V.P. Noordhoff, Groningen. ▪ Backer, C.A. & Bakhuizen Van Den Brink, R.C. 1968. <i>Flora of Java (Spermatophytes Only)</i>, Vol. III. N.V.P. Noordhoff, Groningen. </td> </tr> </table> <p>Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.</p> <div style="text-align: right; margin-top: -20px;"> <p>Batu, 08 Juli 2019 Kepala UPT Lab. Herbal Materia Medica Batu</p> <p style="margin-top: 10px;">  Dr. Husin R.M., Drs., Apt., M.Kes. NIP: 19611102 199103 1 003 </p> </div>		Nama / NIM	: 1. ZIDNI HAFIZHA / 152210101019 2. ALWI ROBIYANTO / 152210101022 3. ILHAM ROBBYNOOR S. / 152210101036	Fakultas	: FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS JEMBER	Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)	Divisi	: Spermatophyta	Sub Divisi	: Angiospermae	Kelas	: Monocotyledonae	Ordo	: Liliales	Famili	: Liliaceae	Genus	: Eleutherine	Spesies	: <i>Eleutherine americana</i> (Aubl.) Merr.	Sinonim	: <i>Eleutherine bulbosa</i> , <i>E. plicata</i> Herb., <i>E. palmifolia</i> (L.) Merr.	Nama Umum	: Bawang sabrang, bawang tiwai, bawang dayak, bawang berlian, bawang kapal, bawang kambe, brambang sabrang.	Kunci determinasi	: 1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31a-32a-33b-35a-36d-37b-38b-39b-41b-42b-44b-45b-46e-50b-51b-53b-54b-56b-57b-58b-59d-72b-73b-74a-75b-76b-333b-334b-335a-336a-337b-338b-341b-342b-343b-344a-1a-2a-3b-4a-5a-9-1.	2. Morfologi	: Habitus: Herba, semusim, tinggi 30-40 cm. Batang: Semu, umbi berlapis bulat telur, merah. Daun: Tunggal, bentuk pita, ujung dan pangkal runcing, tepi rata, hijau. Bunga: Majemuk, tumbuh di ujung batang, panjang tangkai \pm 40 cm, bentuk silindris, kelopak terdiri dari dua daun kelopak, hijau kekuningan, mahkota terdiri dari empat daun mahkota, lepas, panjang \pm 5 mm, putih, benang sari empat kepala sari kuning, putik bentuk jarum, panjang \pm 4 mm, putih kekuningan. Akar: Serabut, ceklat muda.	3. Nama Simplicia	: <i>Eleutherinii Folium</i> / Daun Bawang Sabrang.	4. Asal Tanaman	: Klaseman, Gending, Probolinggo, Jawa Timur.	5. Penggunaan	: Penelitian	6. Daftar Pustaka	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Anonim. http://ff.unair.ac.id/sito/index.php?search=Eleutherine+Americana, diakses tanggal 16 Juni 2010. ▪ Anonim. http://www.warintek.ristek.go.id/pangan_kesehatan/tanaman_obat/depkes/1-112.pdf, diakses tanggal 23 Oktober 2010. ▪ Backer, C.A. & Bakhuizen Van Den Brink, R.C. 1963. <i>Flora of Java (Spermatophytes Only)</i>. N.V.P. Noordhoff, Groningen. ▪ Backer, C.A. & Bakhuizen Van Den Brink, R.C. 1968. <i>Flora of Java (Spermatophytes Only)</i>, Vol. III. N.V.P. Noordhoff, Groningen.
Nama / NIM	: 1. ZIDNI HAFIZHA / 152210101019 2. ALWI ROBIYANTO / 152210101022 3. ILHAM ROBBYNOOR S. / 152210101036																																				
Fakultas	: FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS JEMBER																																				
Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)																																				
Divisi	: Spermatophyta																																				
Sub Divisi	: Angiospermae																																				
Kelas	: Monocotyledonae																																				
Ordo	: Liliales																																				
Famili	: Liliaceae																																				
Genus	: Eleutherine																																				
Spesies	: <i>Eleutherine americana</i> (Aubl.) Merr.																																				
Sinonim	: <i>Eleutherine bulbosa</i> , <i>E. plicata</i> Herb., <i>E. palmifolia</i> (L.) Merr.																																				
Nama Umum	: Bawang sabrang, bawang tiwai, bawang dayak, bawang berlian, bawang kapal, bawang kambe, brambang sabrang.																																				
Kunci determinasi	: 1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31a-32a-33b-35a-36d-37b-38b-39b-41b-42b-44b-45b-46e-50b-51b-53b-54b-56b-57b-58b-59d-72b-73b-74a-75b-76b-333b-334b-335a-336a-337b-338b-341b-342b-343b-344a-1a-2a-3b-4a-5a-9-1.																																				
2. Morfologi	: Habitus: Herba, semusim, tinggi 30-40 cm. Batang: Semu, umbi berlapis bulat telur, merah. Daun: Tunggal, bentuk pita, ujung dan pangkal runcing, tepi rata, hijau. Bunga: Majemuk, tumbuh di ujung batang, panjang tangkai \pm 40 cm, bentuk silindris, kelopak terdiri dari dua daun kelopak, hijau kekuningan, mahkota terdiri dari empat daun mahkota, lepas, panjang \pm 5 mm, putih, benang sari empat kepala sari kuning, putik bentuk jarum, panjang \pm 4 mm, putih kekuningan. Akar: Serabut, ceklat muda.																																				
3. Nama Simplicia	: <i>Eleutherinii Folium</i> / Daun Bawang Sabrang.																																				
4. Asal Tanaman	: Klaseman, Gending, Probolinggo, Jawa Timur.																																				
5. Penggunaan	: Penelitian																																				
6. Daftar Pustaka	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Anonim. http://ff.unair.ac.id/sito/index.php?search=Eleutherine+Americana, diakses tanggal 16 Juni 2010. ▪ Anonim. http://www.warintek.ristek.go.id/pangan_kesehatan/tanaman_obat/depkes/1-112.pdf, diakses tanggal 23 Oktober 2010. ▪ Backer, C.A. & Bakhuizen Van Den Brink, R.C. 1963. <i>Flora of Java (Spermatophytes Only)</i>. N.V.P. Noordhoff, Groningen. ▪ Backer, C.A. & Bakhuizen Van Den Brink, R.C. 1968. <i>Flora of Java (Spermatophytes Only)</i>, Vol. III. N.V.P. Noordhoff, Groningen. 																																				



Lampiran B. Hasil Rendemen Ekstrak Etanol Daun *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr.

Ekstrak Etanol Etanol Daun Bawang Dayak



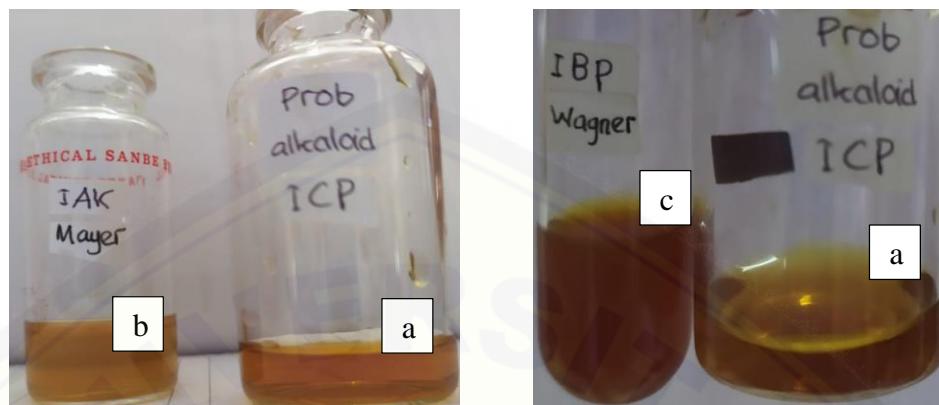
Hasil Perhitungan % rendemen :

Bobot serbuk kering : 100,06 gram

Volume pelarut yang dipakai : 1000 ml

Bobot ekstrak kental : 14,86 gram

$$\begin{aligned} \text{Rendemen yang didapat} &= \frac{\text{Bobot ekstrak kental}}{\text{Bobot serbuk kering}} \times 100\% \\ &= \frac{14,86 \text{ gram}}{100,06} \quad \times 100\% \\ &= 14,85 \% \end{aligned}$$

Lampiran C. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr.Uji Skrining fitokimia tube test senyawa alkaloid

Keterangan:

a : blanko

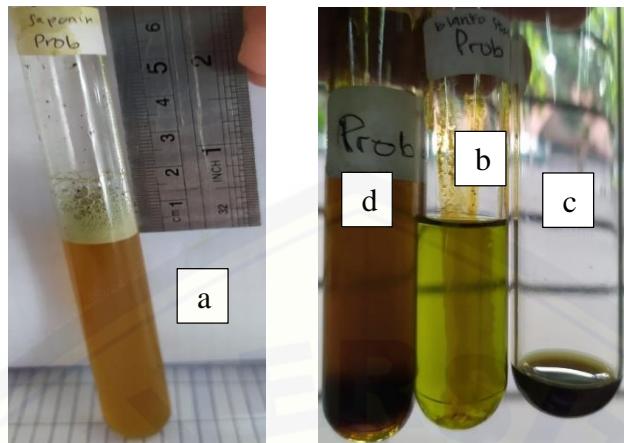
b : penambahan pereaksi mayer terdapat endapan putih (+)

c : penambahan pereaksi wagner terdapat endapan coklat (+)

Uji KLT senyawa alkaloid, dengan fase diam silica gel F₂₅₄, fase gerak etil asetat:metanol:air (9:2:2), dan penampak noda dragendorff.



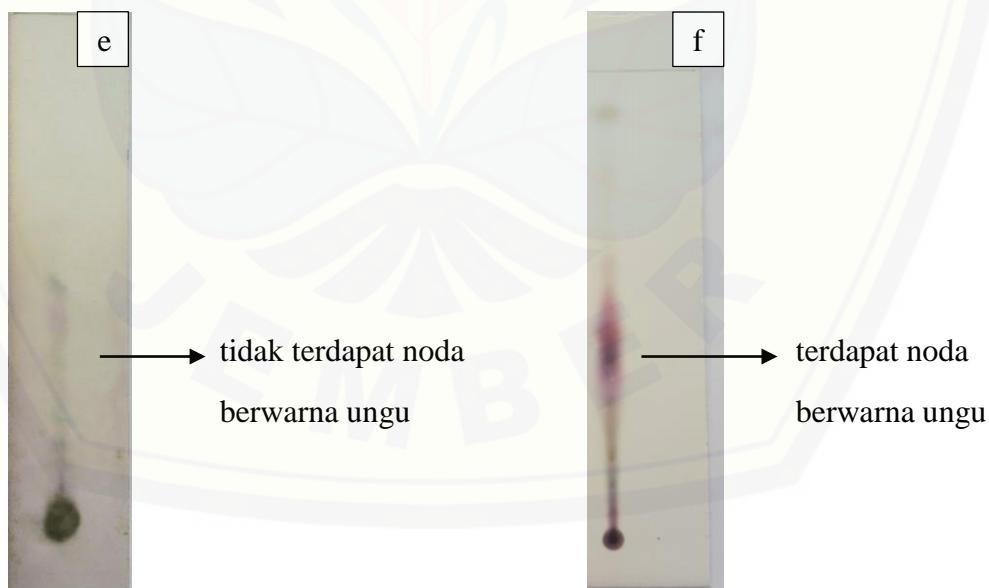
terdapat noda berwarna jingga

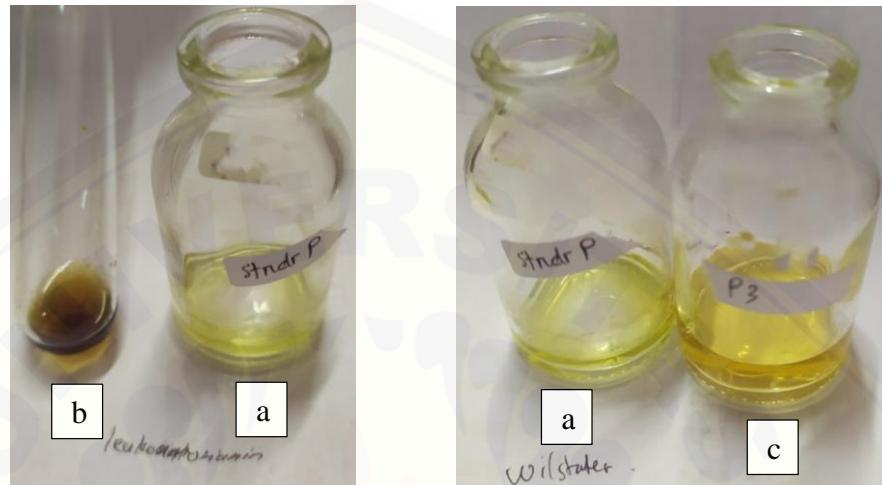
Uji skrining fitokimia *tube test* senyawa saponin, steroid atau terpenoid

Keterangan:

- a : uji saponin menunjukkan adanya busa < 3cm (-)
- b : blanko
- c : uji libermann-burchard terjadi perubahan warna hijau biru (+)
- d : uji salkowski terdapat cincin berwarna merah (+)

Uji KLT (e) golongan sapogenin steroid, atau triterpenoid dan (f) KLT terpenoid atau steroid bebas dengan fase diam silica gel F₂₅₄, fase n-heksana : etil asetat (4:1), dan penampak noda anisaldehid asam sulfat.



Uji skrining fitokimia tube test senyawa flavonoid

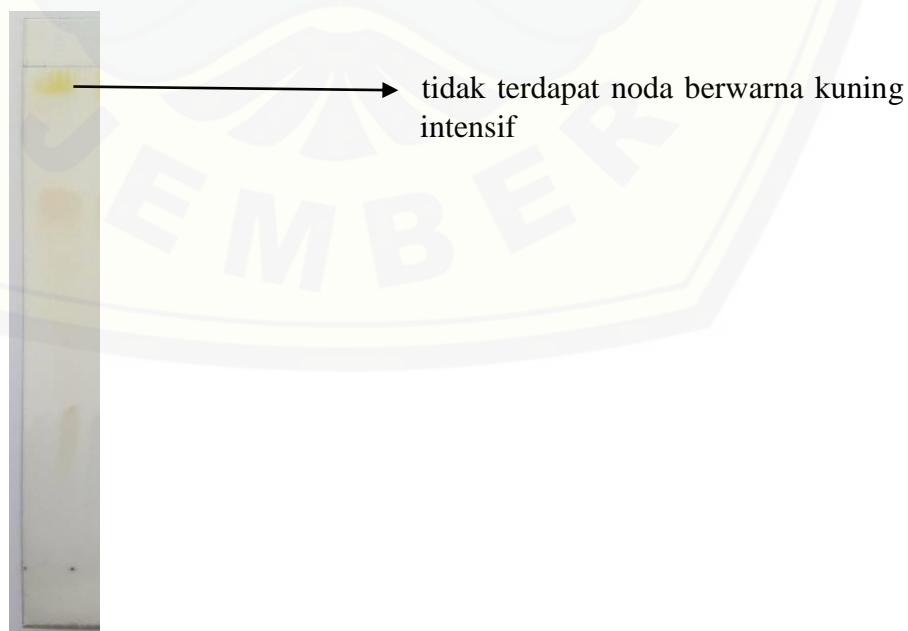
Keterangan:

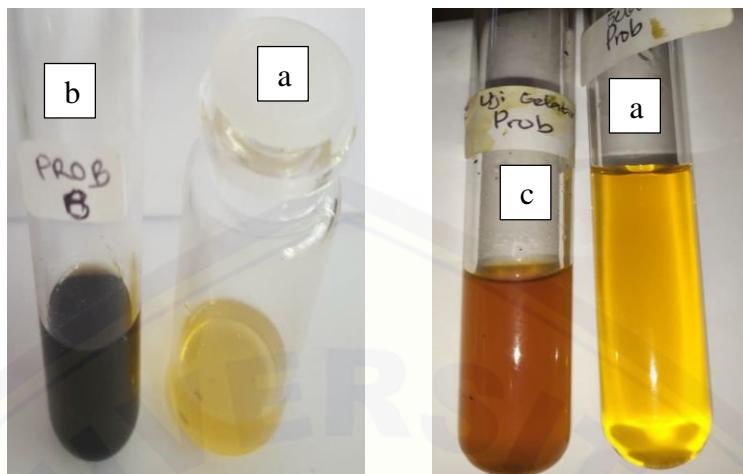
a : blanko

b : uji bate-smith dan metcalf tidak terjadi perubahan warna merah kecoklatan (-)

c : uji wilstater tidak terjadi perubahan warna merah jingga (-)

Uji KLT golongan flavonoid, dengan fase diam silica gel F₂₅₄, fase gerak butanol:asam asetat glasial:air (4:1:5), dan penampak noda uap amonia.



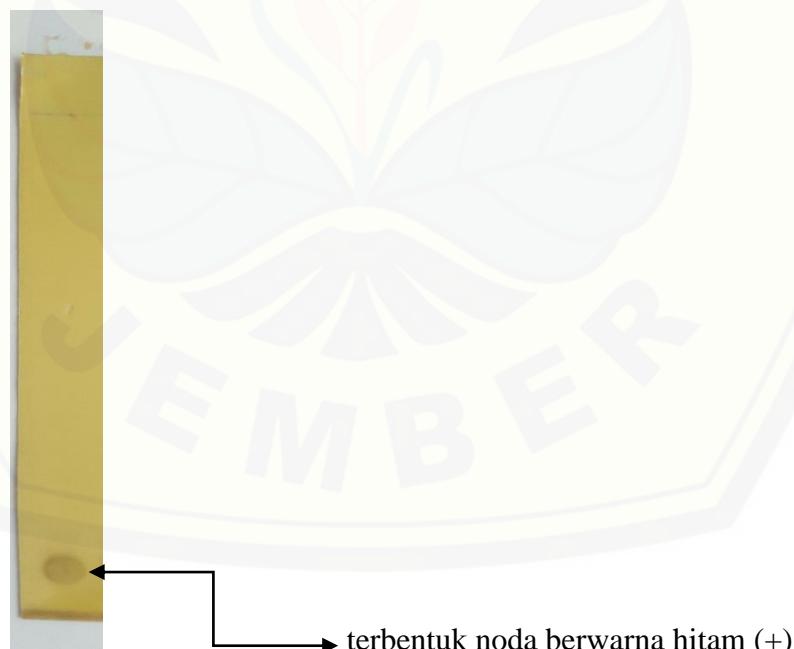
Uji skrining fitokimia *tube test* senyawa polifenol dan tanin

Keterangan:

a : blanko

b : uji feriklorida terjadi perubahan warna hijau kehitaman (+)

c : uji gelatin terdapat endapan berwarna putih (+)

Uji KLT senyawa golongan polifenol, dengan fase diam silica gel F₂₅₄, fase gerak kloroform:etil asetat (9:1), dan penampak noda FeCl₃

Lampiran D. Hasil Perhitungan Larutan Uji

- ❖ Konsentrasi Larutan Induk 100% (b/v):= $\frac{1 \text{ gram}}{1 \text{ mL}} \times 100\%$
- ❖ Konsentrasi yang digunakan

Konsentrasi larutan uji (% b/v)	Volume yang diambil dari larutan induk (μL)	Pelarut DMSO 10% (μL)
40%	400	600
20%	200	800
10%	100	900
5%	50	950
1%	10	990

Lampiran E. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. terhadap Bakteri *S. aureus*

Tabel hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak etanol daun *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. terhadap bakteri *S. aureus* dan perhitungan SD

Replikasi	Pengukuran	1%	5%	10%	20%	40%	k+	k-
1	1	0,00	8,50	9,70	11,00	12,10	24,50	0,00
	2	0,00	8,60	9,40	11,10	12,10	24,20	0,00
	3	0,00	9,00	9,40	11,10	12,40	24,10	0,00
	4	0,00	8,80	9,30	11,20	12,40	24,10	0,00
	5	0,00	8,80	9,50	11,00	12,00	24,50	0,00
	Rata-rata	0,00	8,74	9,46	11,08	12,20	24,28	0,00
2	1	0,00	8,10	9,40	11,00	12,20	24,20	0,00
	2	0,00	8,50	9,60	11,40	12,40	24,50	0,00
	3	0,00	8,50	9,60	11,60	12,40	24,20	0,00
	4	0,00	8,60	9,90	11,60	12,60	24,20	0,00
	5	0,00	8,60	9,90	11,90	12,80	24,40	0,00
	Rata-rata	0,00	8,46	9,68	11,50	12,48	24,30	0,00
3	1	0,00	8,20	9,40	11,30	11,80	24,50	0,00
	2	0,00	7,50	9,00	11,30	12,10	24,60	0,00
	3	0,00	8,10	9,00	11,10	12,10	24,60	0,00
	4	0,00	7,80	9,10	11,00	12,20	24,40	0,00
	5	0,00	7,10	9,10	11,10	12,20	24,40	0,00
	Rata-rata	0,00	7,74	9,12	11,16	12,08	24,50	0,00
Rata-rata keseluruhan		0,00	8,31	9,42	11,25	12,25	24,36	0,00
SD		0,00	0,42	0,23	0,18	0,17	0,10	0,00

Lampiran F. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. terhadap Bakteri *E. coli*

Tabel hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak etanol daun *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. terhadap bakteri *E. coli* dan perhitungan SD

Replikasi	Pengukuran	1%	5%	10%	20%	40%	k+	k-
1	1	0,00	7,10	7,70	8,20	9,50	23,40	0,00
	2	0,00	6,90	7,90	8,40	9,60	23,60	0,00
	3	0,00	7,20	8,00	8,30	9,70	23,60	0,00
	4	0,00	6,60	8,00	8,30	9,70	23,40	0,00
	5	0,00	6,60	8,10	8,40	9,80	23,40	0,00
	Rata-rata	0,00	6,88	7,94	8,32	9,66	23,48	0,00
2	1	0,00	7,00	8,00	8,50	9,70	23,60	0,00
	2	0,00	6,40	8,10	8,80	9,80	23,80	0,00
	3	0,00	6,60	8,30	8,60	10,20	23,80	0,00
	4	0,00	6,60	8,30	8,80	10,10	23,60	0,00
	5	0,00	6,70	8,10	8,70	10,10	23,80	0,00
	Rata-rata	0,00	6,66	8,16	8,68	9,98	23,72	0,00
3	1	0,00	6,50	7,60	8,60	8,80	23,80	0,00
	2	0,00	7,00	8,00	8,30	9,20	24,10	0,00
	3	0,00	6,80	7,60	8,40	9,60	24,10	0,00
	4	0,00	6,80	7,60	8,60	9,00	23,80	0,00
	5	0,00	6,70	7,30	8,40	8,80	24,00	0,00
	Rata-rata	0,00	6,76	7,62	8,46	9,08	23,96	0,00
Rata-rata keseluruhan		0,00	6,77	7,91	8,49	9,57	23,72	0,00
SD		0,00	0,09	0,22	0,15	0,37	0,20	0,00

**Lampiran G. Hasil Uji Statistik Ekstrak Daun *Eleutherine americana* (Aubl.)
Merr. terhadap *S. aureus***

Tests of Normality^{a,c}

	konsentrasi	Kolmogorov-Smirnov ^b			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
s.aureus	5%	,178	3	.	,999	3	,956
	10%	,223	3	.	,985	3	,765
	20%	,318	3	.	,887	3	,344
	40%	,269	3	.	,949	3	,567
	K+	,356	3	.	,818	3	,157

Keterangan :

a = konsentrasi 1% terhadap *S. aureus* **diabaikan** karena tidak ada hambatan

Data dikatakan normal jika nilai signifikansi > 0,05. Hal ini menunjukkan bahwa data terdistribusi normal.

Test of Homogeneity of Variances

s.aureus

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2,581	6	14	,067

Keterangan :

Data dikatakan homogen jika nilai signifikansi > 0,05. Hal ini menunjukkan bahwa data normal dan homogen, sehingga data selanjutnya di analisis menggunakan *One Way Anova*

ANOVA

s.aureus

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1240,180	6	206,697	3315,482	,000
Within Groups	,873	14	,062		
Total	1241,052	20			

Keterangan :

Jika nilai signifikansi < 0,05 maka terdapat perbedaan bermakna pada nilai diameter zona hambat pada semua kelompok uji. Hasil data diperoleh nilai signifikansi 0,000 sehingga data dapat dilanjutkan analisis LSD (*Least Significant Difference*)

Multiple Comparisons

Dependent Variable: s.aureus

LSD

(I) konsentrasi	(J) konsentrasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1%	5%	-8,24667*	,20387	,000	-8,6839	-7,8094
	10%	-9,42000*	,20387	,000	-9,8573	-8,9827
	20%	-11,24667*	,20387	,000	-11,6839	-10,8094
	40%	-12,25333*	,20387	,000	-12,6906	-11,8161
	K+	-24,36000*	,20387	,000	-24,7973	-23,9227
	K-	,00000	,20387	1,000	-,4373	,4373
5%	1%	8,24667*	,20387	,000	7,8094	8,6839
	10%	-1,17333*	,20387	,000	-1,6106	-,7361
	20%	-3,00000*	,20387	,000	-3,4373	-2,5627
	40%	-4,00667*	,20387	,000	-4,4439	-3,5694
	K+	-16,11333*	,20387	,000	-16,5506	-15,6761
	K-	8,24667*	,20387	,000	7,8094	8,6839
10%	1%	9,42000*	,20387	,000	8,9827	9,8573
	5%	1,17333*	,20387	,000	,7361	1,6106
	20%	-1,82667*	,20387	,000	-2,2639	-1,3894
	40%	-2,83333*	,20387	,000	-3,2706	-2,3961
	K+	-14,94000*	,20387	,000	-15,3773	-14,5027
	K-	9,42000*	,20387	,000	8,9827	9,8573
20%	1%	11,24667*	,20387	,000	10,8094	11,6839
	5%	3,00000*	,20387	,000	2,5627	3,4373
	10%	1,82667*	,20387	,000	1,3894	2,2639
	40%	-1,00667*	,20387	,000	-1,4439	-,5694
	K+	-13,11333*	,20387	,000	-13,5506	-12,6761
	K-	11,24667*	,20387	,000	10,8094	11,6839
40%	1%	12,25333*	,20387	,000	11,8161	12,6906
	5%	4,00667*	,20387	,000	3,5694	4,4439
	10%	2,83333*	,20387	,000	2,3961	3,2706
	20%	1,00667*	,20387	,000	,5694	1,4439
	K+	-12,10667*	,20387	,000	-12,5439	-11,6694
	K-	12,25333*	,20387	,000	11,8161	12,6906

K+	1%	24,36000*	,20387	,000	23,9227	24,7973
	5%	16,11333*	,20387	,000	15,6761	16,5506
	10%	14,94000*	,20387	,000	14,5027	15,3773
	20%	13,11333*	,20387	,000	12,6761	13,5506
	40%	12,10667*	,20387	,000	11,6694	12,5439
	K-	24,36000*	,20387	,000	23,9227	24,7973
K-	1%	,00000	,20387	1,000	-,4373	,4373
	5%	-8,24667*	,20387	,000	-8,6839	-7,8094
	10%	-9,42000*	,20387	,000	-9,8573	-8,9827
	20%	-11,24667*	,20387	,000	-11,6839	-10,8094
	40%	-12,25333*	,20387	,000	-12,6906	-11,8161
	K+	-24,36000*	,20387	,000	-24,7973	-23,9227

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Keterangan :

Jika nilai signifikansi < 0,05 maka data dikatakan ada perbedaan yang bermakna
Jika nilai signifikansi > 0,05 maka data dikatakan tidak ada perbedaan atau sama

**Lampiran H. Hasil Uji Statistik Ekstrak Daun *Eleutherine americana* (Aubl.)
Merr. terhadap *E. coli***

Tests of Normality^{a,c}

	konsentrasi	Kolmogorov-Smirnov ^b			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
e.coli	5%	,191	3	.	,997	3	,900
	10%	,202	3	.	,994	3	,851
	20%	,225	3	.	,984	3	,756
	40%	,242	3	.	,973	3	,684
	K+	,175	3	.	1,000	3	1,000

Keterangan :

a = konsentrasi 1% terhadap *E. coli* **diabaikan** karena tidak ada hambatan

Data dikatakan normal jika nilai signifikansi > 0,05. Hal ini menunjukkan bahwa data terdistribusi normal.

Test of Homogeneity of Variances

e.coli

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2,585	6	14	,067

Keterangan :

Data dikatakan homogen jika nilai signifikansi > 0,05. Hal ini menunjukkan bahwa data normal dan homogen, sehingga data selanjutnya di analisis menggunakan *One Way Anova*

ANOVA

e.coli

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1138,236	6	189,706	3824,719	,000
Within Groups	,694	14	,050		
Total	1138,931	20			

Keterangan :

Jika nilai signifikansi < 0,05 maka terdapat perbedaan bermakna pada nilai diameter zona hambat pada semua kelompok uji. Hasil data diperoleh nilai signifikansi 0,000 sehingga data dapat dilanjutkan analisis LSD (*Least Significant Difference*).

Multiple Comparisons

Dependent Variable: e.coli

LSD

(I) konsentrasi	(J) konsentrasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1%	5%	-6,76667*	,18184	,000	-7,1567	-6,3767
	10%	-7,90667*	,18184	,000	-8,2967	-7,5167
	20%	-8,48667*	,18184	,000	-8,8767	-8,0967
	40%	-9,60000*	,18184	,000	-9,9900	-9,2100
	K+	-23,72000*	,18184	,000	-24,1100	-23,3300
	K-	,00000	,18184	1,000	-,3900	,3900
5%	1%	6,76667*	,18184	,000	6,3767	7,1567
	10%	-1,14000*	,18184	,000	-1,5300	-,7500
	20%	-1,72000*	,18184	,000	-2,1100	-1,3300
	40%	-2,83333*	,18184	,000	-3,2233	-2,4433
	K+	-16,95333*	,18184	,000	-17,3433	-16,5633
	K-	6,76667*	,18184	,000	6,3767	7,1567
10%	1%	7,90667*	,18184	,000	7,5167	8,2967
	5%	1,14000*	,18184	,000	,7500	1,5300
	20%	-,58000*	,18184	,007	-,9700	-,1900
	40%	-1,69333*	,18184	,000	-2,0833	-1,3033
	K+	-15,81333*	,18184	,000	-16,2033	-15,4233
	K-	7,90667*	,18184	,000	7,5167	8,2967
20%	1%	8,48667*	,18184	,000	8,0967	8,8767
	5%	1,72000*	,18184	,000	1,3300	2,1100
	10%	-,58000*	,18184	,007	-,1900	,9700
	40%	-1,11333*	,18184	,000	-1,5033	-,7233
	K+	-15,23333*	,18184	,000	-15,6233	-14,8433
	K-	8,48667*	,18184	,000	8,0967	8,8767
40%	1%	9,60000*	,18184	,000	9,2100	9,9900
	5%	2,83333*	,18184	,000	2,4433	3,2233
	10%	1,69333*	,18184	,000	1,3033	2,0833
	20%	1,11333*	,18184	,000	,7233	1,5033
	K+	-14,12000*	,18184	,000	-14,5100	-13,7300
	K-	9,60000*	,18184	,000	9,2100	9,9900

K+	1%	23,72000*	,18184	,000	23,3300	24,1100
	5%	16,95333*	,18184	,000	16,5633	17,3433
	10%	15,81333*	,18184	,000	15,4233	16,2033
	20%	15,23333*	,18184	,000	14,8433	15,6233
	40%	14,12000*	,18184	,000	13,7300	14,5100
	K-	23,72000*	,18184	,000	23,3300	24,1100
K-	1%	,00000	,18184	1,000	-,3900	,3900
	5%	-6,76667*	,18184	,000	-7,1567	-6,3767
	10%	-7,90667*	,18184	,000	-8,2967	-7,5167
	20%	-8,48667*	,18184	,000	-8,8767	-8,0967
	40%	-9,60000*	,18184	,000	-9,9900	-9,2100
	K+	-23,72000*	,18184	,000	-24,1100	-23,3300

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Keterangan :

Jika nilai signifikansi < 0,05 maka data dikatakan ada perbedaan yang bermakna
Jika nilai signifikansi > 0,05 maka data dikatakan tidak ada perbedaan atau sama

Lampiran I. Hasil Uji T Ekstrak Daun *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. terhadap *S. aureus* dan *E. coli*

Uji T Test Konsentrasi 5%

T-Test**Group Statistics**

metode	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
konsentrasi_5% SA	3	8,3133	,51588	,29784
EC	3	6,7667	,11015	,06360

Independent Samples Test

konsentrasi_5%	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
								Lower	Upper
Equal variances assumed	5,580	,077	5,078	4	,007	1,54667	,30456	,70108	2,39226
Equal variances not assumed			5,078	2,182	,031	1,54667	,30456	,33562	2,75771

Uji T Test Konsentrasi 10%

➔ T-Test

Group Statistics

metode	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
konsentrasi_10%	SA	9,4200	,28213	,16289
	EC	7,9067	,27154	,15677

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
konsentrasi_10%	Equal variances assumed	,006	,941	6,694	4	,003	1,51333	,22608	,88564	2,14103
	Equal variances not assumed			6,694	3,994	,003	1,51333	,22608	,88528	2,14139

Uji T Test Konsentrasi 20%

➔ **T-Test**

Group Statistics

metode	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
konsentrasi_20%	SA	11,2467	,22301	,12875
	EC	8,4867	,18148	,10477

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
konsentrasi_20%	Equal variances assumed	,321	,601	16,627	4	,000	2,76000	,16600	2,29911	3,22089
	Equal variances not assumed			16,627	3,841	,000	2,76000	,16600	2,29151	3,22849

Uji T Test Konsentrasi 40%

➔ T-Test

Group Statistics

metode	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
konsentrasi_40%	SA	12,2533	,20526	,11851
	EC	9,5733	,45622	,26340

Independent Samples Test

	konsentrasi_40%	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper	
	Equal variances assumed Equal variances not assumed	1,764	,255	9,279	4	,001	2,68000	,28883	1,87808	3,48192	
				9,279	2,778	,004	2,68000	,28883	1,71780	3,64220	

Uji T Test Kontrol Positif

➔ T-Test

Group Statistics

metode	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
kontrol positif	SA	24,3600	,12166	,07024
	EC	23,7200	,24000	,13856

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
kontrol positif	Equal variances assumed	,637	,470	4,120	4	,015	,64000	,15535	,20868	1,07132
	Equal variances not assumed			4,120	2,964	,027	,64000	,15535	,14221	1,13779

